

Aus dem Institut  
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin  
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

---

Zwei Diastereomere Naringeninglykoside  
aus den Blüten von *Helichrysum Arenarium* L.:  
Ihre Trennung an Polyamid und ihre  
Konstitution

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Gerd Pinkewitz  
aus  
Berlin

1963



Aus dem Institut  
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin  
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

---

Zwei Diastereomere Naringeninglykoside  
aus den Blüten von *Helichrysum Arenarium* L.:  
Ihre Trennung an Polyamid und ihre  
Konstitution

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Gerd Pinkewitz  
aus  
Berlin



Referent: Professor Dr. R. Hänsel  
Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 6. 7. 1962

Tag der Promotion: **27. FEB. 1963**

Meiner Mutter  
in Dankbarkeit gewidmet



Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter der Leitung des Direktors Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Es ist mir eine besondere Freude meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. R. Hänsel für seine wertvollen Ratschläge und das jederzeit bekundete Interesse und Wohlwollen an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Ebenfalls sei mir gestattet, Herrn Professor Dr. G. Schenck, als Direktor des Pharmazeutischen Instituts der Freien Universität meinen Dank auszusprechen für die freundliche Erlaubnis zur Benutzung der Bibliothek und der Apparaturen des Pharmazeutischen Instituts. Ferner möchte ich mich bei all denen bedanken, die mir durch Hinweise und Ratschläge auf Grund ihrer Erfahrungen freundliche Unterstützung zukommen liessen.

Mein Dank gilt im besonderen:

Herrn Dipl.-Ing. J. Huber, Leiter des analytischen Kontrollabors der Fa. Schering A.G Berlin, für die Durchführung der Messung der optischen Drehwerte.

Herrn Dr. Winterfeldt, Technische Universität Berlin, für die Aufnahmen und die Diskussion der Infrarotspektren.

Herrn Dr. Gnichtel, Organisches Institut der Freien Universität Berlin, für die Überlassung der Stewart-Kalottenmodelle.

# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                                                                                                                               | Seite |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| A. Einleitung und Problemstellung                                                                                                                                             | 7     |
| B. Allgemeiner Teil                                                                                                                                                           |       |
| I. Bisherige Untersuchungen                                                                                                                                                   | 11    |
| II. Zur Konstitution von (-),-(+)-und<br>(+)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid                                                                                                    | 13    |
| 1. Isolierung von (-)- und (+)-Naringeninglukosid                                                                                                                             | 14    |
| 2. Synthese von (+)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid zu Vergleichszwecken                                                                                                        | 15    |
| 3. Überführung von (-)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid in das korrespondierende 2'-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'-monoglukosid und dessen katalytische Hydrierung zum Phlorrhizin | 24    |
| 4. Identität des (+)-Naringeninglukosids mit dem aus der Rinde von <i>Salix purpurea</i> isolierten Salipurposid                                                              | 27    |
| 5. Trennung des Diastereomerengemisches von (+)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid in die beiden Komponenten                                                                       | 29    |
| 6. Milde Säurehydrolyse der beiden Diastereomeren zu (+)-u.(-)-Naringenin                                                                                                     | 33    |
| 7. Zur Konfiguration der beiden Naringeninglukoside                                                                                                                           | 36    |
| a. Allgemeines zur Konfiguration von Flavanonen                                                                                                                               | 36    |

|                                                                                                                                   | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| b. Infrarotspektroskopische Untersuchung von (+)-u.(-)-Naringeninglukosid                                                         | 38    |
| c. Konfiguration und IR-Spektren der beiden diastereomeren Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukoside                                 | 43    |
| d. Abhängigkeit des Rf-Wertes vom räumlichen Bau des Moleküls                                                                     | 49    |
| III. Das farbgebende Prinzip der Flores Stoechados                                                                                | 50    |
| C. Zusammenfassung                                                                                                                | 53    |
| D. Experimenteller Teil                                                                                                           |       |
| 1. Isolierung und Charakterisierung von (-)-u. ( $\pm$ )-Naringeninglukosid aus den Blütenköpfen von <i>Helichrysum arenarium</i> | 56    |
| 2. Partielle Racemisierung des (-)-Naringeninglukosids zur ( $\pm$ )-Verbindung                                                   | 59    |
| 3. Partielle Synthese des ( $\pm$ )-Naringeninglukosids über das aus der (-)-Verbindung gewonnene Chalkonglukosid                 | 60    |
| 4. Vollsynthese des ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids nach Zemplen u. Bognar et. al.                               | 61    |
| a. Phloracetophenon                                                                                                               | 61    |
| b. 4-Benzoylphloracetophenon                                                                                                      | 62    |
| c. 2-(tetraacetyl-D-glukosido)-4-benzoylphloracetophenon                                                                          | 63    |
| d. 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosid                                                                     | 64    |

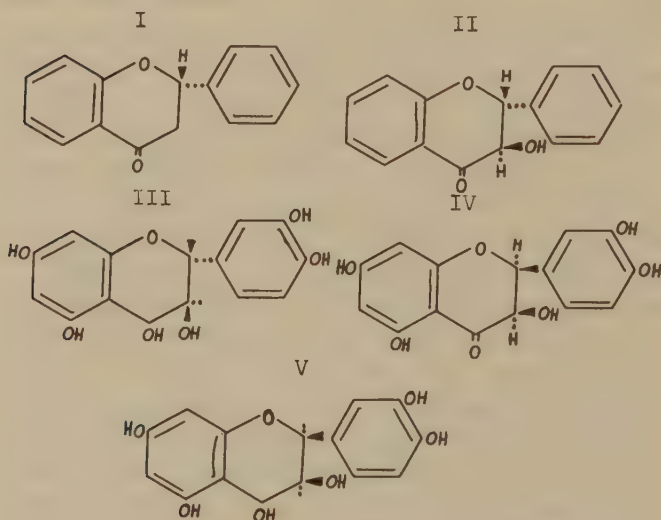
|                                                                                          | Seite |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| e. ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid                                       | 65    |
| 5. Trennung der ( $\pm$ )-Verbindung in die beiden Diastereomeren an einer Polyamidsäule | 66    |
| 6. Enzymatische Hydrolyse der diastereomeren Naringeninglukoside                         | 70    |
| 7. Milde Säurehydrolyse in Glykol-Schwefelsäure                                          | 71    |
| a. (-)-Naringeninglukosid                                                                | 71    |
| b. (+)-Naringeninglukosid                                                                | 71    |
| c. ( $\pm$ )-Naringeninglukosid                                                          | 72    |
| 8. Spezifische Drehung der unter 7a - c erhaltenen Aglyka                                | 72    |
| 9. Infrarotspektren                                                                      | 74    |
| 10. Isolierung und Identifizierung des natürlichen Helichrysum-Chalkons                  | 76    |
| a. Verhalten beim Schmelzen und Farbreaktionen                                           | 76    |
| b. Rf-Wert                                                                               | 76    |
| c. Optische Aktivität                                                                    | 77    |
| d. UV-Spektrum                                                                           | 77    |
| e. Katalytische Hydrierung zum Phlorrhizin                                               | 77    |
| f. Quantitative Säurehydrolyse                                                           | 79    |
| E. Literaturverzeichnis                                                                  | 80    |
| F. Lebenslauf                                                                            | 84    |

## A. Einleitung und Problemstellung

Optisch aktive Pflanzeninhaltsstoffe sind in der Natur weit verbreitet. Man findet sie bei den Alkaloiden, Glykosiden, Flavonoiden, Zuckern, Pflanzensäuren u.a.m.. Die grundlegenden Kenntnisse dieser Erscheinung sind bereits von Pasteur, Le Bel und Van't Hoff untersucht und beschrieben worden. Als erster führte Emil Fischer ein geeignetes System für die Bezeichnung konfigurativer Beziehungen ein, das von C. S. Hudson (28) weiter vervollkommen wurde. Dieses nicht für alle optisch aktiven Stoffe anwendbare System, ist durch die neueren Arbeiten von Cahn, Ingold und Prelog (7), die eine universelle, heute viel benutzte Methode zur Bezeichnung der absoluten Konfiguration organischer Verbindungen entwickelt haben, abgelöst worden. Hierbei wird die R- oder S-Konfiguration durch die räumliche Anordnung der Substituenten am asymmetrischen C-Atom bestimmt und die Reihenfolge der Atomgruppen nach der "Sequence Rule", die auf der Ordnungszahl der Atome basiert, festgelegt. Das Arbeiten nach diesem System setzt bei komplexeren Verbindungen grössere praktische Erfahrung voraus und lässt besonders bei zyklischen Systemen die strukturmässige Ähnlichkeit naher verwandter Stoffe nicht klar erkennen. Mit der immer mehr erweiterten Kenntnis über die absolute Konfiguration der optisch aktiven Naturstoffe stellte man durch Untersuchungen an einer Vielzahl solcher Substanzen fest, dass der weitaus grösste Teil dieser Verbindungen innerhalb einer Reihe in einer bestimmten absoluten Konfiguration auftritt, die als charakteristisches Merkmal dieser Reihe anzusehen ist. Wie immer gibt es aber auch hier Ausnahmen von dieser "normalen"

Konfiguration. Man findet solche Abweichungen bei einigen Gliedern der natürlich vorkommenden Zucker wie z.B. beim Vitamin C und der L-Streptose, die im Gegensatz zu den sonstigen Zuckern, der L-Serie angehören.

Ebenso besitzen die verschiedenen Morphin-Alkaloide die gleiche absolute Konfiguration mit Ausnahme des Sinomenins, das zu diesen enantiomorph ist. Von den Flavanonen (I) und den 3-Hydroxyflavanonen (II) gehört die Mehrzahl dieser Verbindungen konfigurationsmässig der Reihe des (+)-Catechins (III) an; d.h. sie besitzen die gleiche absolute Konfiguration am C<sub>2</sub> wie das (+)-Catechin. Aber auch hier tauchen "abnormale" Konfigurationen auf, wie am Beispiel des Fustins (IV) und des Leuko-Fisetinidins (V) zu ersehen ist (12).



Aus der Klasse der  $C_6-C_3-C_6$ -Körper sind bisher die Catechine am gründlichsten auf die stereochemischen Zusammenhänge - Konfiguration, cis-trans-Isomerie, Konformation und optische Aktivität - untersucht worden. Die Arbeiten von Birch, Clark-Lewis und Robertson (3,4,11), Weinges (45,46), Freudenberg (15,16), E.A.H. Roberts (38), Schmidt u. Mayer (40) u.a. wiesen die absolute Konfiguration des (+)-Catechins als 2R, 3S-Konfiguration nach und stellten so die absolute Konfiguration aller Naturstoffe dieser Reihe sicher.

Flavanone die nur ein einziges asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzen und durch Umlagerung der Substituenten an diesem in die enantiomorphen Formen, beziehungsweise - wenn sie als Glykoside vorliegen - in die diastereomeren Verbindungen überführt werden können, sind erst in letzterer Zeit auf ihre absolute Konfiguration untersucht worden. Arakawa und Nakazaki (1) gelang es mittels Ozonabbau von (-)-Hesperetin, (-)-Liquiritigenin und (+)-Sakuranetin zur konfigurationsgleichen (-) bzw. (+)-Äpfelsäure die absolute Konfiguration der links und rechtsdrehenden Flavanone zu beweisen. Hierbei zeigte sich, dass den (-)-Verbindungen die 2S, der (+)-Verbindung die 2R-Konfiguration zugesprochen werden muss. Dieser Konfigurationsnachweis steht im Einklang mit der Annahme von Weinges (46), der durch Vergleich der  $M_D$ -Werte der Catechine, den linksdrehenden Flavanonen die gleiche Konfiguration wie dem (+)-Catechin zusprach. Die vorhergehenden Darlegungen zeigten, dass in

der Natur sowohl Flavanone der R als auch der S-Reihe vorkommen, wobei die Flavanone der R-Reihe als die "abnormalen" zu gelten haben. In keinem einzigen Falle allerdings ist es bisher gelungen, aus einundderselben Pflanze die enantiomorphen Formen der Flavanone der R- und S-Reihe in reiner Form zu isolieren. Erstmals hat der Arbeitskreis von R. Hänsel und D. Heise (21,22,20) auf das gleichzeitige Vorliegen zweier diastereomerer Flavanone, dem (+)- u. (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid in den Blütenköpfen von *Helichrysum arenarium* hingewiesen. D. Heise (22) war es bereits gelungen ein Diastereomeres in einheitlicher Form zu isolieren und zu linksdrehendem (-)-Naringenin zu hydrolysieren. Die Isolierung des (+)-Naringenin-glukosids und die Freimachung des rechtsdrehenden Antipoden hatte D. Heise aus seinen Untersuchungen ausgeklammert. Als hinderlich erwies sich der geringe Anteil dieses Isomeren, der knapp 10% des Diastereomerengemisches ausmachte und seine ausgeprägte Neigung zur Mischkristallbildung mit dem (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid. In Fortführung dieser Untersuchungen sollte das (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid durch moderne Trennverfahren abgetrennt, in reiner Form isoliert und in seinen Eigenschaften studiert werden. Zu Vergleichszwecken schien es wesentlich diese Trennung nicht nur mit dem natürlichen Diastereomerengemisch durchzuführen, sondern sie vielmehr an den synthetischen Glukosiden zu ergänzen. Im Zuge weiterer Untersuchungen sollte gleichzeitig die Konstitution des (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids überprüft werden, da es von anderen Autoren als Naringenin-5- $\beta$ -D-di-glukosid angesehen worden war.

## B. Allgemeiner Teil

### I. Bisherige Untersuchungen

Im Jahre 1958 gelang es R. Hänsel und D. Heise (20) aus den Blütenköpfen von *Helichrysum arenarium* zwei isomere Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukoside zu isolieren. Das eine Glukosid, Helichrysin A, schmilzt auf dem Kofler Heiztischmikroskop bei 160° (Zersetzung), das andere, Helichrysin B, bei 227° (Zersetzung). Es zeigte sich, dass es sich beim Helichrysin A um das 5- $\beta$ -D-monoglukosid des optisch aktiven (-)-Naringenins handelte. Helichrysin B, das offensichtlich mit dem von J. Rabate (10) aus der Rinde von *Salix Purpurea* isolierten und von Zemlen und Mitarbeitern (48,49) synthetisierten Salipurposid identisch war, lieferte bei der Hydrolyse nach H. Arthur (2) neben D-Glukose optisch inaktives ( $\pm$ )-Naringenin; es verhält sich nur beim Umkristallisieren wie eine einheitliche Verbindung, nicht aber adsorptions- u. papierchromatographisch. Helichrysin B wurde für ein partielles Racemat, d.h. für eine Molekülverbindung des (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids und des (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids gehalten. Weiterhin wurde ein Verfahren zur "partiellen Racemisierung" des Helichrysin A ( (-)-Naringeninglukosid) zum Helichrysin B ( ( $\pm$ )-Naringeninglukosid) beschrieben.

Die umstehende Tabelle zeigt in einer Übersicht einige Konstanten der Verbindungen.

| Daten                                                                                                                                 | Helichrysin A                     | Helichrysin B                    | Salipurposid                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Schmelzpunkt                                                                                                                          | 160°                              | 227°                             | 227°                              |
| Spez. Drehg.<br><div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> <math>\alpha</math> </div> $\frac{20}{D}$ | -119,5°                           | -110,2°                          | -109,7°                           |
| Kristallwasser                                                                                                                        | 8,1%                              | 0%                               | 5,42%                             |
| Hydrolyse                                                                                                                             | Naringenin<br>D-Glukose<br>62,16% | Naringenin<br>D-Glukose<br>61,4% | Naringenin<br>D-Glukose<br>62,44% |
| Glykosidbin-<br>dung                                                                                                                  | C-5; $\beta$ -gly-<br>kosid.      | C-5; $\beta$ -gly-<br>kosid.     | C-5; $\beta$ -gly-<br>kosid.      |
| FeCl <sub>3</sub> -Reaktion                                                                                                           | negativ                           | negativ                          | negativ                           |
| Rf-Wert<br>Eisessig:H <sub>2</sub> O<br>15:85                                                                                         | 0,51                              | 0,51; 0,63                       | 0,51; 0,63                        |

Ungefähr gleichzeitig (1958) isolierte eine polnische Autorin, Z. Jerzmanowska (30,31), dieselben Glukoside aus Flores Stoechados. Sie erkannte sie zwar richtig als Naringenin-5- $\beta$ -D-glukoside, nahm jedoch an, dass die Unterschiede der Schmelzpunkte der beiden Verbindungen auf unterschiedlichem Kristallwassergehalt beruhen. Etwa zwei Jahre später gelangten die gleichen Glukoside tschechischen Forschern in die Hände, die unter V. Herout (24), sich

ebenfalls mit den Inhaltsstoffen von *Helichrysum arenarium* befassten. Abweichend von R. Hänsel und D. Heise (21,22) glaubten diese Untersucher, der Unterschied der Verbindungen läge am Zuckergehalt der Glukoside. Sie schrieben der Verbindung vom Schmp.  $227^{\circ}$  eine 5- $\beta$ -D-mono-glukosidische und der bei  $160^{\circ}$  schmelzenden Substanz eine 5- $\beta$ -D-diglukosidische Struktur zu. ++ Daraus ergab sich für uns, die Heisische Konstitution des Helichrysin A ((-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid) und des Helichrysin B (( $^{+}$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid) erneut zu überprüfen.

## II. Zur Konstitution von (-),-(+)-u. ( $^{+}$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid

Zusätzlich zu den von R. Hänsel und D. Heise (21,22) ausgeführten Reaktionen wurden noch folgende Arbeiten zum Konstitutionsbeweis durchgeführt:

Synthese des ( $^{+}$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids sowie die Überführung von (-)-u. ( $^{+}$ )-Naringeninglukosid in das 2'-4'-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'-monoglukosid und dessen katalytische Hydrierung zum Phlorrhizin.

---

++ lt. einem an uns gerichteten Schreiben vom Januar 62 schliesst sich die tschechische Forschungsgruppe unter V. Herout unseren Feststellungen über die Struktur der in Flores Stoechados gefundenen Naringeninglukoside an.

Über diese Reaktionen wird in den folgenden Abschnitten berichtet.

## 1. Isolierung von (-)-u. ( $\pm$ )-Naringeninglukosid

Zunächst musste uns daran liegen, erneut eine hinreichende Menge der beiden Glukoside zu isolieren, wenn möglich nach einem verbesserten Gewinnungsverfahren. (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid isolierten wir in Anlehnung an die üblichen Gewinnungsmethoden für Flavanoglykoside: Entfetten der Droge mit Petroläther, Extrahieren mit Aceton und Aufnehmen des Extraktrückstandes mit warmem Wasser. Beim Stehenlassen des wässerigen Auszuges fielen durchschnittlich 0,4% des (-)-Naringeninglukosids an. Weitere Mengen der (-)- und ( $\pm$ )-Verbindung blieben unter den angegebenen Bedingungen in der Mutterlauge zurück. Sie wurden chromatographisch an einer Polyamidsäule nach dem Verfahren von R. Neu (9,35) getrennt. Die mit dem wässerigen Extrakt beschickte Säule liess bereits im Tageslicht drei gut voneinander getrennte Zonen erkennen, die mit römisch I, II und III bezeichnet wurden. Aus dem blassgelben Eluat der Zone II schied sich ein Kristallgemisch - etwa 0,35 % bezogen auf die eingesetzte Extraktmenge - aus, das aufgrund seines Verhaltens beim Schmelzen, seiner unterschiedlichen Löslichkeit in absolutem Alkohol, sowie papierchromatographisch, als ein Gemisch von (-)- und ( $\pm$ )-Naringeninglukosid identifiziert wurde.

Das Eluat der langsam wandernden Zone I bildete beim Einengen im Vakuum schöne

orange-gelbe, prismatische Kristalle. Sie wurden als das Chalkon-6'-glukosid erkannt, das den oben erwähnten Naringeninglukosiden isomer ist.

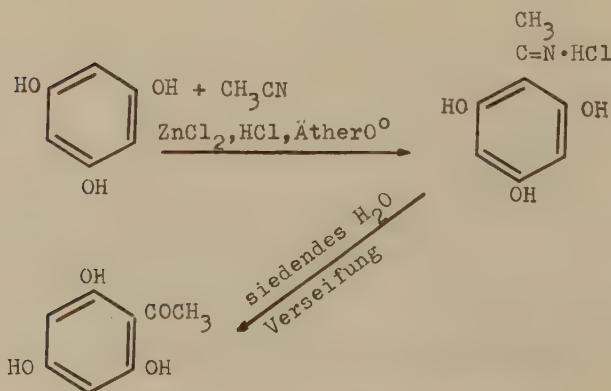
Die Trennung des kristallinen Gemisches der Zone II konnte durch die unterschiedliche Löslichkeit der beiden Komponenten in absolutem Alkohol einfach durchgeführt werden, wobei der leichtlösliche Anteil, (-)-Naringeninglukosid, Schmp.  $160^{\circ}$ , ca. 85- 90 % betrug. Die im Lösungsmittel schwerlöslichen, blassgelben Kristalle der ( $\pm$ )-Verbindung ( ca. 10 - 12 % ) schmolzen nach mehrmaligem Umkristallisieren aus warmen 70%igem Äthanol bei  $227^{\circ}$  (Zersetzung). Die Angaben von D. Heise(22) wurden vollauf bestätigt: Die Substanz, Schmp.  $160^{\circ}$ , ist papierchromatographisch einheitlich; die Substanz Schmp.  $227^{\circ}$  trennt sich im Laufmittel Eisessig : Wasser (15:85) in zwei gleichstarke Komponenten  $R_f = 0,51$  und  $R_f = 0,63$  auf; dabei stimmt die eine der beiden Komponenten (  $R_f = 0,51$  ) mit der Substanz vom Schmp.  $160^{\circ}$  nach Laufhöhe und Farbreaktion überein.

## 2. Synthese des ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids zu Vergleichszwecken.

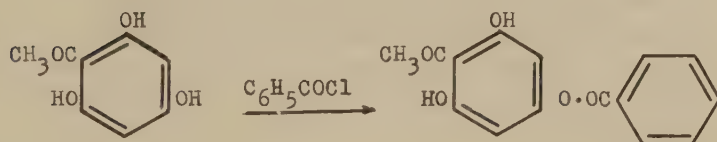
Zur Erhärtung der Arbeitshypothese, dass das natürliche ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid tatsächlich ein Diastereomerenpaar darstelle, synthetisierten wir die Verbindung nach der Methode von Zemlen und Bognar (48,49). Die letzte Stufe der Synthese besteht in einem Ringschluss des offenkettigen Chalkons zum Flavanönglukosid unter dem

Einfluss von Natriumacetat. Es war nicht zu erwarten, dass die Zyklisierung sterisch soweit gerichtet war, dass ausschliesslich nur ein dem (-)- oder (+)-Naringenin korrespondierendes Naringenin-glukosid sich bilden würde. Es konnte vielmehr mit ziemlicher Sicherheit angenommen werden, dass das synthetische Endprodukt aus der Mischung der beiden diastereomeren Formen bestand. Durch die Synthese stellten wir damit gleichzeitig die monoglukosidische Struktur der Substanz sicher.

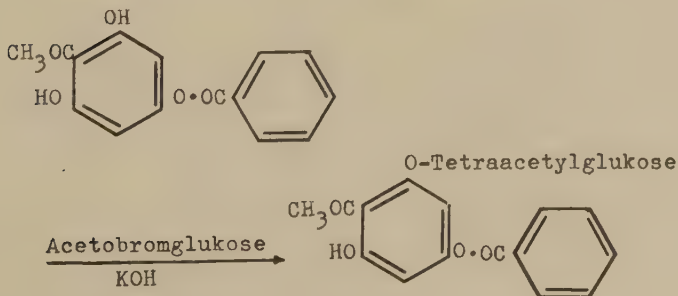
Das als erste Phase erforderliche Phloracetophenon wurde nach dem von K.C. Gulati, S.R. Seth und K. Venkataraman (19) entwickelten Verfahren (eine modifizierte Hoesch-Synthese), durch Einleiten von HCl in eine wasserfreie Lösung von getrocknetem Phloroglucin und Acetonitril in Äther, bei Anwesenheit von Zinkchlorid, über das intermediär anfallende Ketimid-Hydrochlorid, durch Verseifung dargestellt. Der Schmelzpunkt der erhaltenen blassgelben Kristalle betrug 218 - 219°.



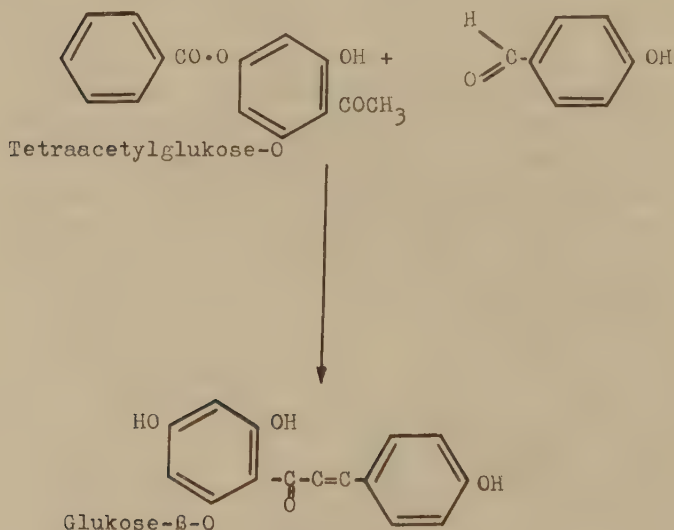
Die Benzoylierung des Phloracetophenons in 4-Stellung konnte mit der schmelzpunktreinen Substanz nach den Arbeiten von F.W. Canter, F.H. Curd und A. Robertson (8), verhältnismässig einfach und in guter Ausbeute erzielt werden. Die länglichen Plättchen schmolzen bei  $210 - 211^{\circ}$  und gaben mit Eisenchloridlösung eine rotbraune Färbung.



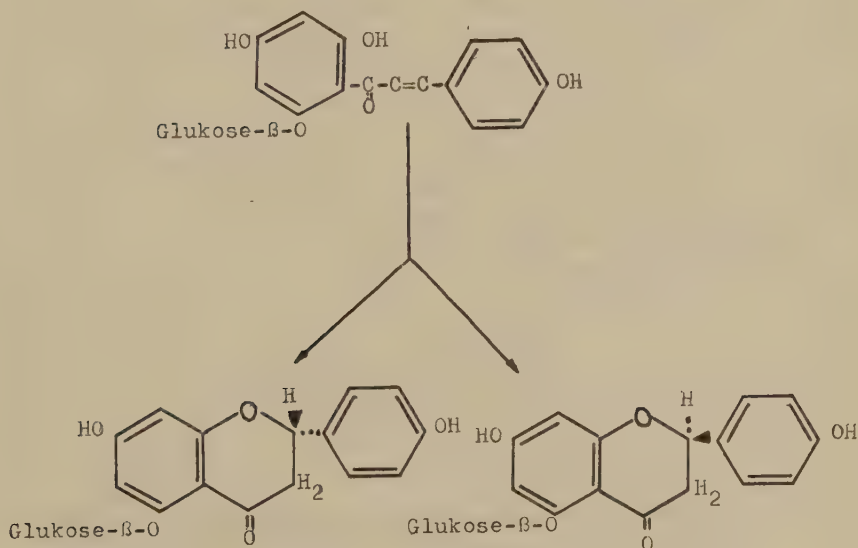
Die Einführung der Glukose in das 4-Benzoylphloracetophenonmolekül in 2-Stellung, wurde nach der von Zemlen und Mitarbeiter (48,49) beschriebenen Synthese mittels in Aceton gelöster Acetobromglukose, im alkalischen Medium durchgeführt. Erhalten wurden seidenglänzende, farblose lange Kristallnadeln, die bei  $176 - 177^{\circ}$  schmolzen.



Das mehrmals umkristallisierte 2-tetraacetyl-D-glukosido-4-benzoylphloracetophenon wurde mit 60%iger Kalilauge verseift und mit p-Oxybenzaldehyd kondensiert. Aus der kongosauer eingestellten Lösung sollte nun, der Arbeitsvorschrift entsprechend, nach Stehen im Eisschrank, das Chalkon auskristallisieren. Es fiel jedoch lediglich freie Benzoesäure aus. Erst durch Ausäthern der Lösung konnte das Chalkon zur Kristallisation gebracht werden. Die langen, gelben Prismen wurden aus Wasser zweimal umkristallisiert und bei 40° getrocknet. Der Schmelzpunkt lag bei 160 - 163° (Zersetzung).

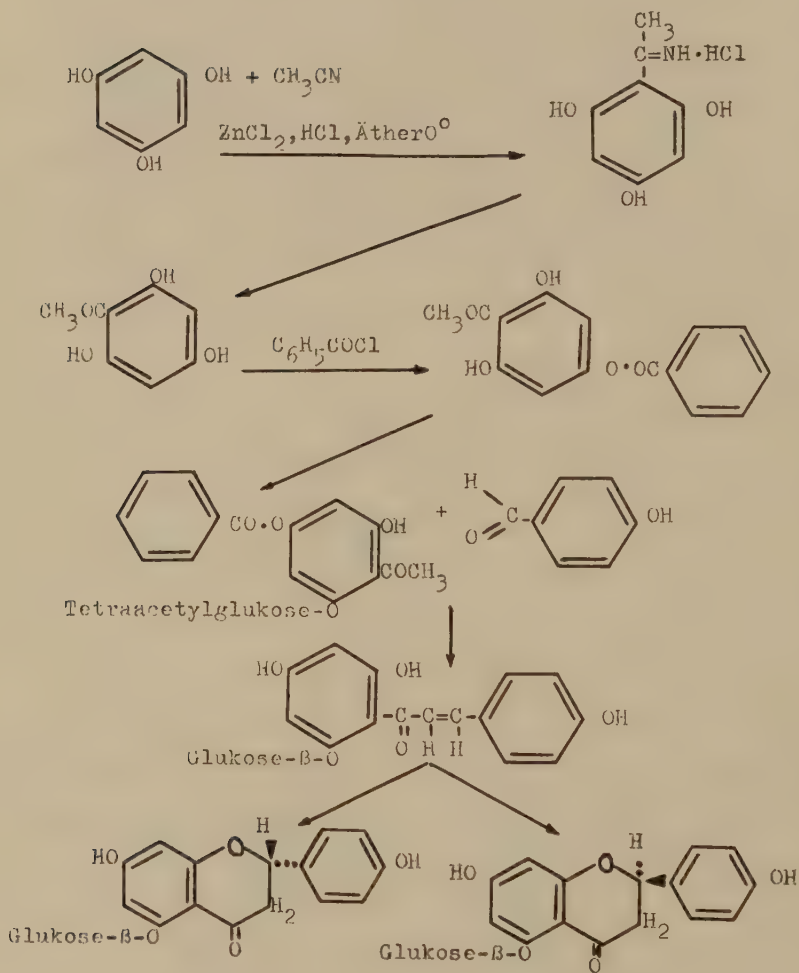


Die letzte Stufe der Synthese bestand in der Zyklisierung des 2'-4'-6'-tetrahydroxy-chalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosids zum Flavanonglukosid. Der Ringschluss wurde mit Natriumacetat in der Wärme ( Wasserbadtemperatur ) vorgenommen, wobei die Lösung nach einiger Zeit eine hellere Färbung annahm. Nach Zusatz von Wasser kristallisierte nach ca. 48 Stunden eine Substanz in feinen, fast farblosen Nadeln aus, die mit Wasser gewaschen und aus 30%igem Methanol mit Kohle umkristallisiert wurde: Schmp.  $227^{\circ}$  (Zersetzung).



( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid

Schema der Synthese von (+)-Naringenin-  
5-β-D-monoglukosid nach Zemlen et al.

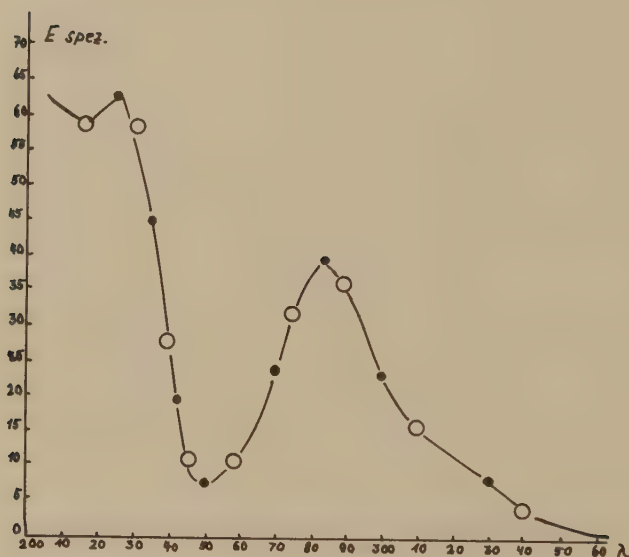


(+)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid

Die erhaltene synthetische Substanz stimmt in sämtlichen Eigenschaften mit der aus *Helichrysum arenarium* isolierten Verbindung vom Schmp.  $227^{\circ}$  überein, welche R. Hänsel und D. Heise (20,21,22) als ein Mischkristallisat von (-)-u. (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid erkannt hatten. Im einzelnen ergab sich folgendes:

Beide Substanzen, Naturstoff und synthetisches Produkt, verhielten sich papierchromatographisch gleich. Im Laufmittel Eisessig:Wasser (15:85) trennten sie sich in zwei Flecke gleicher Intensität auf, ein Verhalten wie es bereits im vorhergehenden Abschnitt (Seite 15) beschrieben worden ist. Die UV-Absorptionsspektren des natürlichen und des synthetischen ( $\pm$ )-Naringeniglukosids stimmten nach Lage und Höhe der Banden überein; ihre IR-Spektren waren identisch. Eine Übersicht über die Eigenschaften von natürlicher und synthetischer Substanz zeigt die untenstehende Tabelle.

|                                                               | ( $\pm$ )-Naringeniglukosid nat.                         | ( $\pm$ )-Naringeniglukosid synth.                       |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Rf-Wert <sup>++</sup><br>Eisessig:H <sub>2</sub> O<br>(15:85) | 0,51;0,63                                                | 0,51;0,63                                                |
| Schmelzpunkt                                                  | $227^{\circ}$<br>Zersetzung                              | $227^{\circ}$<br>Zersetzung                              |
| Spez. Drehg.<br>$[\alpha]_D^{20}$<br>Äthanol                  | $-110,4^{\circ}$                                         | $-110,2^{\circ}$                                         |
| UV-Spektren<br>$\lambda_{\max}$                               | $\max_1 = 225\text{m}\mu$<br>$\max_2 = 283,5\text{m}\mu$ | $\max_1 = 225\text{m}\mu$<br>$\max_2 = 283,5\text{m}\mu$ |
| Hydrolytische<br>Spaltprodukte                                | Naringenin 61,6%<br>D-Glukose                            | Naringenin 60,2%<br>D-Glukose                            |
| <sup>++</sup> entwickelt mit methanol. KOH (Gelbfärbung)      |                                                          |                                                          |

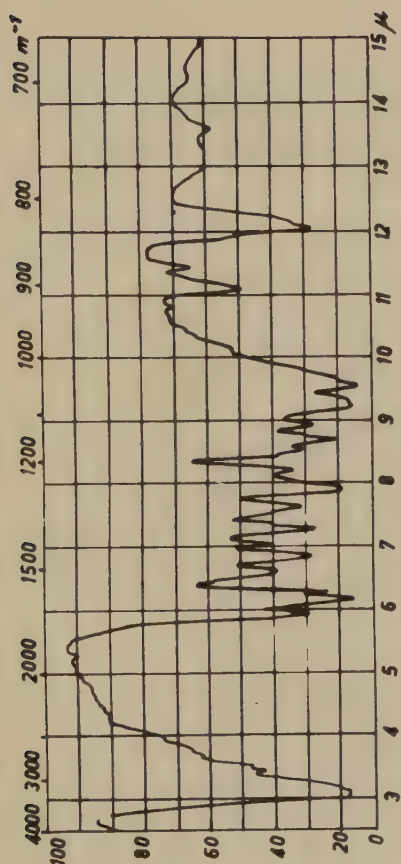


- = isoliert aus Flores Stoechados  
 ● = synthetisiert nach Zemlen et al.

UV-Absorptionskurven von (±)-Naringenin-  
 5-β-D-monoglukosid

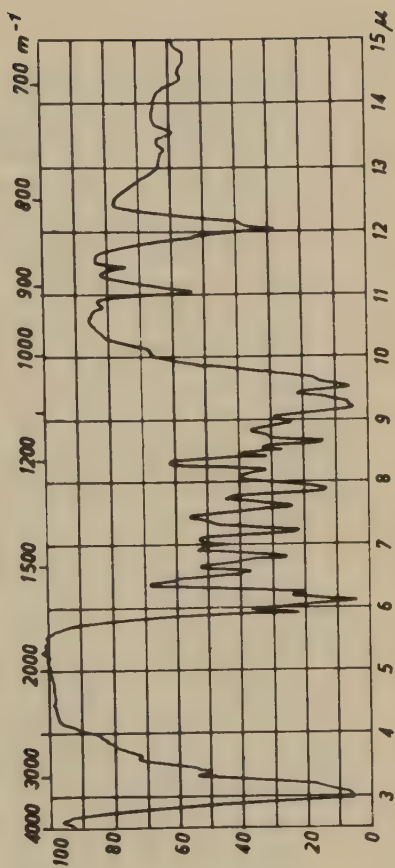
$$\lambda_{\max_1} = 225,0 \text{ m}\mu$$

$$\lambda_{\max_2} = 283,5 \text{ m}\mu$$



DURCHLASSIGKEIT IN %

(+)-Naringenin-5-β-D-  
monoglukosid (synth.)  
in KBr



(+)-Naringenin-5-β-D-  
monoglukosid (nat.)  
in KBr

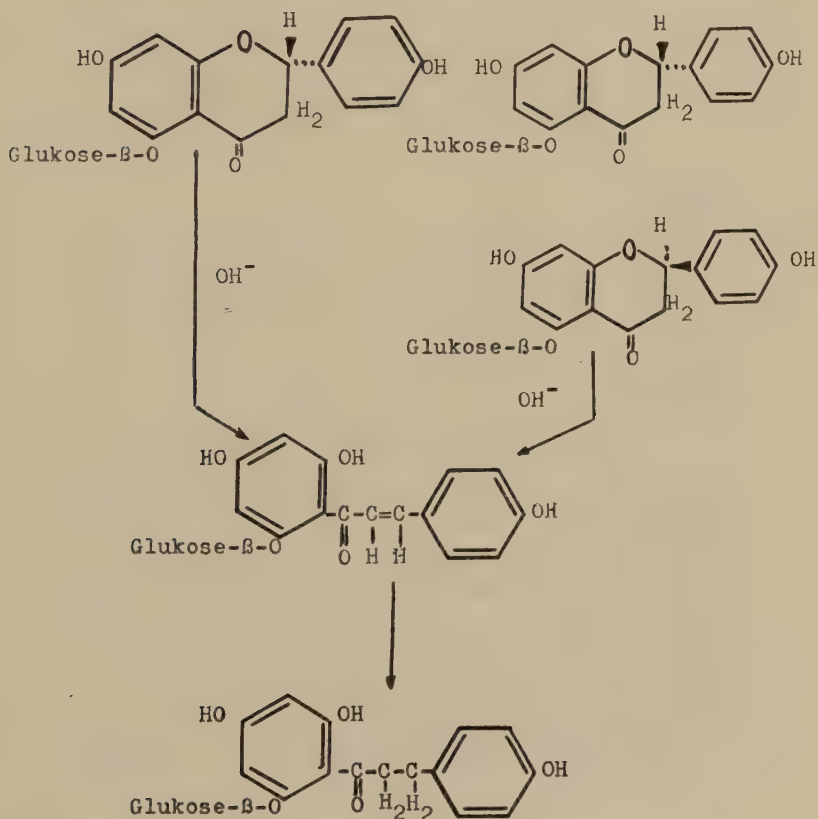
3. Überführung von (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid in das korrespondierende Chalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosid und dessen katalytische Hydrierung zum Phlorrhizin.

Wie schon vorher erwähnt, wurde von R. Hän-  
sel und D. Heise (20,21,22), dem aus *Helichry-  
sum arenarium* isolierten Glukosid vom Schmp.  
160° eine monoglukosidische Konstitution zu-  
geschrieben. V. Herout und Sorm (24) hatten  
dasselbe Glukosid, ohne besondere Beweise da-  
für anzugeben, für ein Naringeninidglukosid ge-  
halten. Anscheinend wurden sie zu dieser An-  
nahme dadurch verleitet, dass die Struktur ei-  
nes Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosides schon ei-  
ner Substanz mit dem abweichenden Schmelzpunkt  
227° zugeschrieben worden war. Davor hatten  
G. Tappi (43) und A. Spada (42) ein aus den Pol-  
len von *Acacia dealbata* isoliertes Glykosid eben-  
falls für ein Naringenin-5- $\beta$ -D-diglukosid ge-  
halten, eine Substanz, die in ihren Eigenschaf-  
ten offensichtlich mit unserem (-)-Naringenin-  
5- $\beta$ -D-monoglukosid identisch ist. Die monoglu-  
kosidische Struktur des (-)-Naringeninglukosids  
ergibt sich nun eindeutig aus folgendem:  
Durch Behandeln mit Alkali lässt es sich zu ei-  
nem Chalkon aufspalten, das mit dem syntheti-  
schen Produkt identisch ist (s. Seite ). Mit-  
tels Palladium-Kohle kann man es weiter zu ei-  
nem Dihydrochalkon hydrieren, das mit natürli-  
chem Phlorrhizin in allen Eigenschaften über-  
einstimmt und dessen monoglukosidische Struktur  
seit langem feststeht (14). Das aus Flores iso-  
lierte Mischkristallisat ( $\pm$ )-Naringeninglukosid

( Helichrysin B ), Schmp. 227°, lässt sich ebenfalls durch Alkali zum Chalkon aufspalten und ins Phlorrhizin überführen.

Das folgende Schema zeigt den Verlauf der Reaktionen.

(-)-Naringeninglukosid ( $\pm$ )-Naringeninglukosid



Die Öffnung des Pyronringes nach der Methode von Zemplen und Bogner (48,49) führte in beiden Fällen in einer durchschnittlichen Ausbeute von fast 80 % zum Chalkonglukosid, das in allen Daten mit dem synthetischen Produkt übereinstimmte.

In der folgenden Tabelle sind die Eigenschaften beider Chalkonglukoside (nat. und synth.) noch einmal zusammengefasst.

| Daten                                                                          | Chalkonglukosid<br>natürlich                             | Chalkonglukosid<br>synthetisch                           |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Rf-Wert <sup>++</sup><br>Eisessig:H <sub>2</sub> O<br>(6:4)                    | 0,65                                                     | 0,65                                                     |
| Schmelzpunkt                                                                   | 160-163°<br>Zersetzung                                   | 160-163°<br>Zersetzung                                   |
| Spez. Drehg.<br>$\left[ \alpha \right]_{D}^{20}$<br>Methanol                   | -9,8°                                                    | -8,6°                                                    |
| UV-Spektren                                                                    | $\lambda_{\max} = 370m\mu$<br>$\lambda_{\min} = 270m\mu$ | $\lambda_{\max} = 370m\mu$<br>$\lambda_{\min} = 270m\mu$ |
| Hydrolytische<br>Spaltprodukte                                                 | ( <sup>+</sup> )Naringenin<br>D-Glukose                  | ( <sup>+</sup> )Naringenin<br>D-Glukose                  |
| Katalytische<br>Hydrierung<br>(Pd-Kohle)                                       | Phlorrhizin<br>Schmp. 121-123°                           | Phlorrhizin<br>Schmp. 121-123°                           |
| <sup>++</sup> Entwicklung mit methanolischer KOH (1%)<br>( Gelb-Braunfärbung ) |                                                          |                                                          |

Bei der Hydrierung mittels Palladium-Kohle nach Bognar und Racosì (5) nahmen das natürliche sowie das synthetische Chalkon pro Molekül ein Mol Wasserstoff auf und die anfallenden Hydrierungsprodukte stimmten in allen Eigenschaften mit natürlichem Phlorrhizin (Schuchard, München) überein.

Durch die Hydrierung zum Phlorrhizin sind Zahl und Stellung der Glukosemoleküle in den Ausgangsverbindungen eindeutig festgelegt.

4. Identität von  $(+)$ -Naringenin-5- $\beta$ -D-mono-glukosid (Helichrysin B) und natürlichem Salipurposid.

Bereits im Jahre 1931 isolierten C. Charaux und J. Rabate (10) aus der Rinde von *Salix purpurea* ein Glykosid, das sie Salipurposid nannten und dessen Konstitution sie als Naringenin-5- $\beta$ -D-glukosid festlegten. Zehn Jahre später bestätigten Zemplen und Bognar (48,49) die Struktur des Salipurposids durch Synthese. Beide Forschungsgruppen hielten ihre Verbindungen für einheitlich. Es lag uns nun daran das Salipurposid erneut in die Hand zu bekommen, um den Beweis zu führen, dass diese Verbindung ebenfalls ein Mischkristallisat der Diastereomeren darstellt und somit identisch mit dem von uns aus *Helichrysum arenarium* erhaltenen  $(+)$ -Naringeninglukosid ist. Bei der Nacharbeitung nach der Methode von Charaux und Rabate (10) gelang es uns, aus *Salix purpurea* eine Substanz zu

isolieren (Schmp.  $227^{\circ}$  Zersetzung), die alle für Salipurposid angegebenen Eigenschaften besass. Der Hauptanteil der Glykosidfraktion aber (ca. 80 %) bestand aus einem in absoluten Alkohol leichter löslichen Anteil, der mit seinen physikalischen Konstanten (Schmp.  $160^{\circ}$  Zersetzung) deutlich vom Salipurposid abwich. Das auskristallisierte Produkt erwies sich als einheitliches (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-mono-glukosid.

Es ist schwer zu verstehen, dass alle früheren Untersucher - wie der Arbeitskreis um Charaux (10) und der ungarische um Zemlen (48, 49) - diese Verbindung übersehen haben sollten, zumal das (-)-Diastereomere den Hauptanteil der Glykosidfraktion ausmacht. Bei Zemlen und Mitarbeiter wird dies verständlich, wenn man die Arbeitsmethode betrachtet. Sie extrahierten nämlich die Droge mit absolutem Alkohol in Gegenwart von Calciumkarbonat, wobei offenbar Racemisierung eintrat. Bei den französischen Autoren ist anzunehmen, dass sie vielleicht die Fraktion vom Schmp.  $160^{\circ}$  für ein noch unreines Produkt der Substanz vom Schmp.  $227^{\circ}$  ansahen.

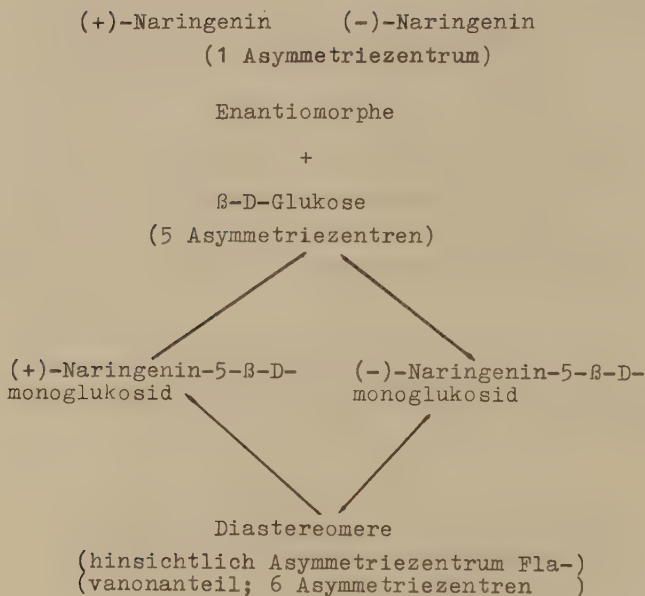
Die Verbindung vom Schmp.  $227^{\circ}$  (Salipurposid),  $[\alpha]_D^{20} = -110^{\circ}$  (Äthanol), zeigte unter anderem folgende Eigenschaften: Sie trennte sich papierchromatographisch im Laufmittel Eisessig:Wasser (15:85) in zwei Glukoside mit den Rf-Werten 0,51 und 0,63 auf; Hydrolyse der Substanz in Ameisensäure-Glykol führte zu racemischen ( $\pm$ )-Naringenin (1 Mol) und zu einem Mol D-Glukose. Die Salix purpurea-Substanz Schmp.  $160^{\circ}$ , spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -119^{\circ}$  (Äthanol), wies fol-

gendes Verhalten auf: Das Glukosid ist papierchromatographisch einheitlich und entspricht der einen der beiden Salipurposidkomponenten vom  $R_f = 0,51$ ; Hydrolyse in Ameisensäure-Glykol führt zu einem Mol optisch aktivem (-)-Naringenin mit der spez. Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -18,6^\circ$  in Äthanol. Durch Behandeln mit Natriumacetat in der Wärme lässt es sich über das Chalkon in Salipurposid überführen. Aus dem Vergleich der Daten halten wir die aus *Salix purpurea* gewonnenen Naringeninglukoside als identisch mit den von uns aus den Blütenköpfen von *Helichrysum arenarium* isolierten (-)-u. ( $^+$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosiden.

5. Trennung des Diastereomerengemisches ( $^+$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid in die beiden Komponenten.

Flavanonglykoside sind aus zwei optisch aktiven Komponenten, dem Flavanon und dem jeweiligen Zuckeranteil, zusammengesetzt. Das Genin besitzt ein Asymmetriezentrum und folglich sind zwei enantiomorphe Formen möglich. Durch Verknüpfung der Antipoden mit dem Zucker entstehen diastereomere Verbindungen, die sich durch Verschiedenheit ihrer physikalischen Daten, wie Schmelzpunkt, Löslichkeit u.s.w. voneinander unterscheiden.

Schemamässig ergibt sich für die zu betrachtenden diastereomeren Naringeninglukoside folgendes Bild:



In der Natur scheinen diastereomere Flavanone  
 ziemlich regelmässig vorzukommen, wobei aber zu  
 beachten ist, dass die Komponente mit dem links-  
 drehenden Flavanonanteil bevorzugt gebildet  
 wird. Das Diastereomere mit rechtsdrehendem Ge-  
 nin tritt fast immer nur als Mischkristallisat  
 in Verbindung mit der linksdrehenden Form auf.  
 Dieses Phänomen macht es verständlich, dass al-  
 le bekannten freien Flavanone, die bisher iso-  
 liert wurden, Linksdrehung aufweisen. Durch  
 fraktionierte Kristallisation gelang es S. Hi-

shida (25) aus natürlichem ( $\pm$ )-Hesperidin Diastereomere und daraus durch milde Hydrolyse (+)- und (-)-Hesperetin zu gewinnen. Diese Methode lieferte aber nur (-)-Hesperidin in reiner Form, das (+)-Hesperidin wurde als ein Gemisch von (+)- und ( $\pm$ )-Hesperidin erhalten. Auf die gleiche Weise isolierte er aus natürlichem Sakuranin ein rechtsdrehendes Aglykon.

Unser ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid liess sich nicht durch fraktionierte Kristallisation in seine Komponenten zerlegen. Im Rahmen dieser Arbeit sollte nun erstmalig ein Weg gesucht werden, das Diastereomerenpaar zu trennen und die zweite noch unbekannte Komponente, das (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid, rein zu erhalten.

Die Tatsache, dass sich das ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid durch fraktionierte Kristallisation nicht trennen lässt und das auskristallisierte Produkt immer den gleichen Schmelzpunkt von 227° aufweist, deutet auf ein partielles Racemat hin, d.h. die beiden Diastereomeren vereinigen sich im molaren Verhältnis 1:1 und kristallisieren als Molekülverbindung aus. Diese Erscheinung wurde erstmals von Ladenburg (33) bei den diastereomeren Chinarsalzen beobachtet und unter dem Namen "Partielle Racemie" zusammengefasst. McKenzie und Lewis (34) beschrieben das Verhalten einer solchen Verbindung am racemischen Mandelsäure(-)-Menthylester. Unter anderem heisst es da: "Der Ester verhält sich wie eine einheitliche Verbindung. Er kann unverändert umkristallisiert werden und ist daher nicht durch Kristallisation in seine Komponenten zerlegbar. In Lösung jedoch verhält er sich wie ein Gemisch gleicher Teile von (-)-Mandelsäure(-)-Menthylester und (+)-Mandel-

säure(-)-Menthylester. Die beiden Isomeren können durch Verseifung getrennt werden, da diese mit verschiedener Geschwindigkeit erfolgt."

Es war naheliegend, die Trennung mittels einer chromatographischen Methode zu versuchen, da - wie schon vorher hervorgehoben - die beiden Diastereomeren sich papierchromatographisch gut auftrennten. Vorversuche dieser Art hatte schon D. Heise im Rahmen seiner Dissertation an Zellulosesäulen, Magnesol und Aluminiumoxyd durchgeführt, die aber nicht befriedigend verlaufen waren. Auf diese Vorarbeiten und eigene Vorversuche aufbauend gelang es uns, eine Trennmethode an Polyamidpulver zu entwickeln. Das (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid war mit 70%igem Äthanol leichter eluierbar als das (-)-Naringeninglukosid. Beide Glukoside durchwandern die Säule allerdings nicht als deutlich getrennte Zonen, sondern überlappen sich teilweise. Nur der erste Anteil der glukosidhaltigen Fraktion besteht aus einheitlichem (+)-Naringeninglukosid. Alle folgenden Fraktionen enthalten in zunehmenden Masse (+)- und ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid. Die Ausbeute, auf das eingesetzte Diastereomeregemisch bezogen, betrug an reiner (+)-Verbindung nur etwa 5 %.

Durch die grundlegenden Untersuchungen von W. Grassmann et al. (9,18,26,27,35) wurde in der letzten Zeit eine Methode bekannt, die sich in zahlreichen Fällen zur präparativen chromatographischen Auftrennung phenolischer Stoffe bewährt hat: Chromatographie an Kunststoffen vom Muster der Polyamide (Perlon, Nylon). Polyamid weist bei der Trennung phenolischer Stoffe den bisher verwendeten Adsorptionsmitteln wie Zellulose, Magnesol, Kieselgur u.a. den Vorteil wesentlich grösserer Kapazität auf, da die Bindung der Phenole nicht nur an der

Oberfläche, sondern auch im Innern des Polyamids durch Wasserstoffbrücken zwischen den phenolischen Hydroxygruppen und den Amidgruppen erfolgt. Die Haftfestigkeit und damit der Trenneffekt der einzelnen Phenole hängt weitgehend von der Anzahl der freien OH-Gruppen ab. Zusätzlich kann ein unterschiedliches Bindungsvermögen durch sterische Hinderung, räumlichen Bau oder intramolekulare Wasserstoffbrückenbildung bewirkt werden. Die Bindung lässt sich je nach Stärke mit einfachen Eluationsmitteln wie Wasser, Alkohole, Aceton u.a. aufheben.

Die erhaltene reine Substanz schmolz unter Zersetzung bei 244 -247° und erwies sich papierchromatographisch im Laufmittel Eisessig:Wasser (15:85) als einheitlich (  $R_f = 0,63$  ). Das UV-Spektrum stimmte nach Lage und Höhe der Banden sowohl mit dem Ausgangsprodukt als auch mit der Verbindung vom Schmp. 160° ((-)-Naringeninglukosid) überein. Auf den Unterschied der IR-Spektren zwischen dem (+)- und (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid wird später im Zusammenhang mit der Konfigurationsanalyse ausführlich eingegangen werden. Im folgenden wird gezeigt werden, dass die Verbindungen vom Schmp. 160° und 244-247° enantiomorphe Aglyka liefern: nämlich (+)- und (-)-Naringenin.

#### 6. Milde Säurehydrolyse der beiden Diastereomeren zu (+)- und (-)-Naringenin.

Die (+) bzw. (-) Konfiguration der Genine der diastereomeren Naringeninglukoside musste sich durch Hydrolyse und anschließende Messung der Drehung beweisen lassen. Hydrolytische Spaltung im salzsauren Medium war nicht möglich,

da sofort Racemisierung der Aglyka erfolgte. Versuche, durch enzymatische Hydrolyse nach S. V. Ting (44) in verschiedenen Pufferlösungen optisch aktives Naringenin zu erhalten, schlugen wegen mangelnder Ausbeute fehl. Die nach den Angaben von Arthur (2) im wasserfreien Medium - Ameisensäure-Glykol - durchgeführte Hydrolyse ergab zwar optisch aktives Aglykon, aber ebenfalls in zu geringer Ausbeute. Erst die Spaltung in schwefelsaurem Glykol nach S. Hishida (25), zeigte verwendbare Ergebnisse. Nicht ganz sicher erscheint es jedoch, ob nach dieser Methode optisch reine Aglyka ((+)- und (-)-Naringenin) erhalten werden, was allerdings für die vorliegende Fragestellung von untergeordneter Bedeutung ist. Das Glukosid vom Schmp.  $160^{\circ}$  lieferte - wie bereits von D. Heise (22) gefunden - linksdrehendes Naringenin, dessen spezifische Drehung unter den Bedingungen der Hydrolyse als  $[\alpha]_D^{21} = -11,6^{\circ}$  bestimmt wurde. Das Glukosid vom Schmelzpunkt  $244-247^{\circ}$  führte unter denselben Bedingungen zu einem ebenfalls optisch aktiven, diesmal aber rechtsdrehendem Naringenin. Spezifische Drehung:  $[\alpha]_D^{21} = +8,9^{\circ}$ .

Der Unterschied der Drehung von  $2,7^{\circ}$  beim (+)-Naringenin ist wahrscheinlich auf Messfehler zurückzuführen, da die eingesetzte Substanzmenge knapp bemessen war.

Durch das Ergebnis der spezifischen Drehung, das klar und eindeutig das Vorhandensein der Antipoden (+) und (-)-Naringenin beweist, ist auch gleichzeitig die Struktur der beiden Glukoside festgelegt. Es zeigt, dass sich die beiden Diastereomeren nur am asymmetrischen  $C_2$  unterscheiden.

Weiterhin wurde mit der Durchführung dieses Versuchs bewiesen, dass das Mischkristallisat ( $\pm$ )-Naringeninglukosid tatsächlich aus dem Diastereomerenpaar (+)- und (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-mono-glukosid besteht.

Folgende Tabelle zeigt eine Zusammenstellung der spezifischen Drehwerte und Schmelzpunkte der optisch aktiven Naringeninglukoside sowie der daraus gewonnenen optisch aktiven Antipoden.

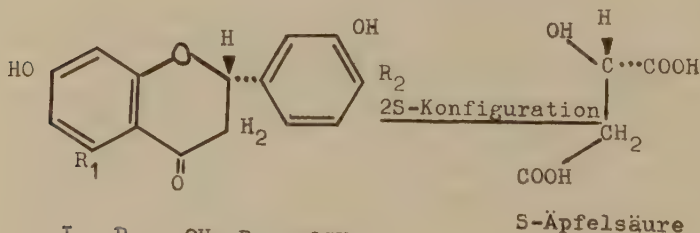
| Verbindung                    | Spez. Drehung<br>Äthanol         | Schmelzpunkt           |
|-------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| (+)-Naringenin-glukosid       | $[\alpha]_D^{21} = -104,6^\circ$ | 244-247°<br>Zersetzung |
| (-)-Naringenin-glukosid       | $[\alpha]_D^{20} = -118,4^\circ$ | 160°<br>Zersetzung     |
| ( $\pm$ )-Naringenin-glukosid | $[\alpha]_D^{21} = -110,5^\circ$ | 227°<br>Zersetzung     |
| (+)-Naringenin                | $[\alpha]_D^{21} = +8,9^\circ$   | 254°                   |
| (-)-Naringenin                | $[\alpha]_D^{21} = -11,6^\circ$  | 253°                   |
| ( $\pm$ )-Naringenin          | $[\alpha]_D^{21} = \pm 0^\circ$  | 251°                   |

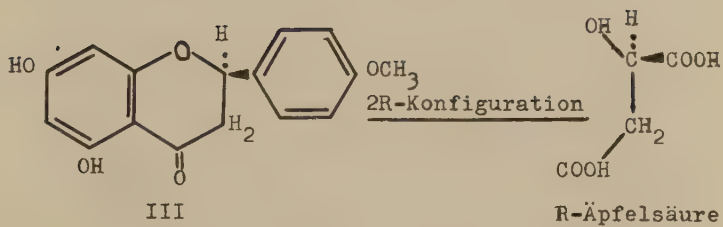
7. Konfiguration des (+)-und (-)-Naringenin-  
5-β-D-monoglukosids.

a. Allgemeines zur Konfiguration der Flavanone,

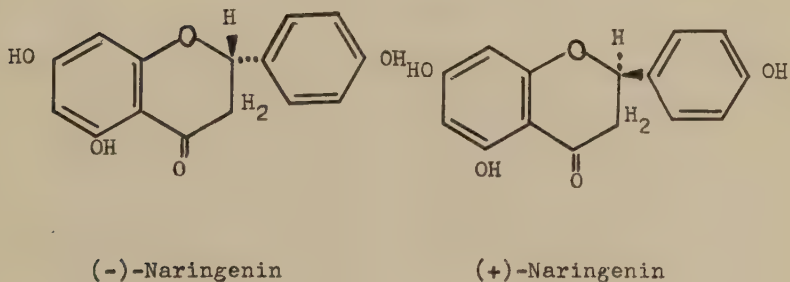
Die bisher in der Natur aufgefundenen Flavanone zeigen alle - bis auf wenige Ausnahmen - einen negativen Drehsinn. Da diese Verbindungen nur ein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzen, ist eine Konfigurationsänderung nur an dieser Stelle möglich. Durch Umlagerung der Substituenten am C-Atom 2 würde man also den entgegengesetzt drehenden Antipoden erhalten.

Nagazaki und Mitarbeiter (1) haben die absolute Konfiguration von (-)-Hesperetin (I), (-)-Liquiritigenin (II) und von (+)-Sakuranetin (III) durch Ozonabbau zur konfigurationsgleichen Äpfelsäure bewiesen. Den Verbindungen I und II kommt die 2S, der Verbindung III die 2R-Konfiguration zu. Zur Kennzeichnung der Konfiguration wurde das von Cahn, Ingold und Prelog (7) vorgeschlagene System gewählt.



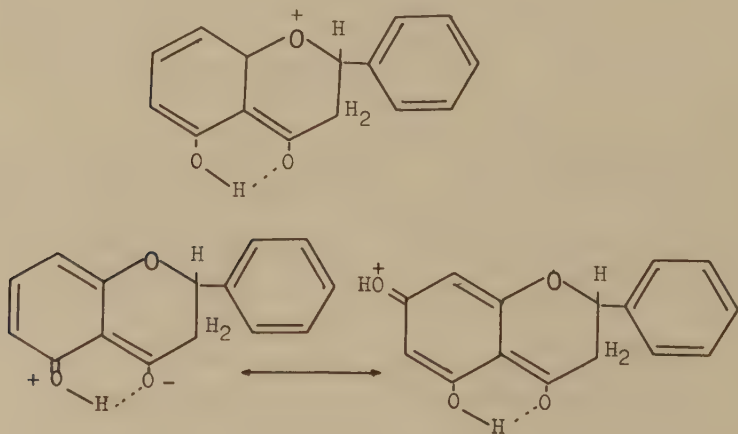


Bei den von uns untersuchten beiden diastereomeren Flavanonglukosiden und den daraus durch modifizierte Hydrolyse gewonnenen Aglyka, ist demnach dem (-)-Naringenin die 2S, dem (+)-Naringenin die 2R-Konfiguration zuzuschreiben.



b. Infrarotspektroskopische Untersuchungen  
von (-)- und (+)-Naringeninglukosid

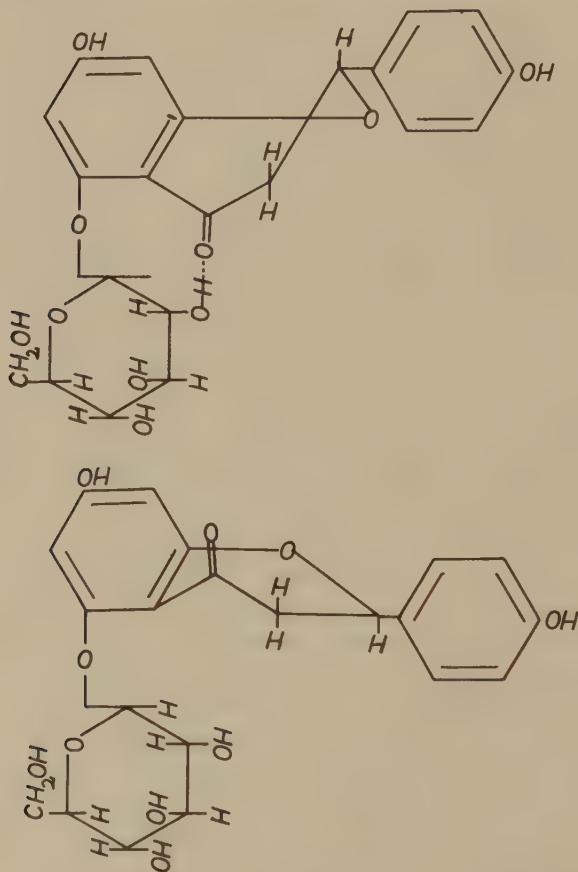
Die Valenzschwingung für nicht substituierte Flavanone liegt nach H.L. Hergert und E.F. Kurth (23) bei  $1680\text{ cm}^{-1}$ . Treten Hydroxylgruppen in 5 und 7-Stellung in das Molekül ein, so bewirken diese eine starke Verschiebung der C=O-Bande zur kleineren Wellenzahl. Eine Erklärung hierfür findet man in der Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen Keto- und OH-Gruppe. Ist das Molekül nur in 5-Stellung substituiert, ist die Chelatbildung am stärksten, die Frequenz verschiebt sich von  $1680$  nach  $1610\text{ cm}^{-1}$ . Durch weitere Beteiligung einer OH-Gruppe am C-Atom 7 ändern sich die Mesomerieverhältnisse und es tritt eine Abschwächung der Chelation ein, die Wellenzahl erhöht sich auf  $1620\text{ cm}^{-1}$ .

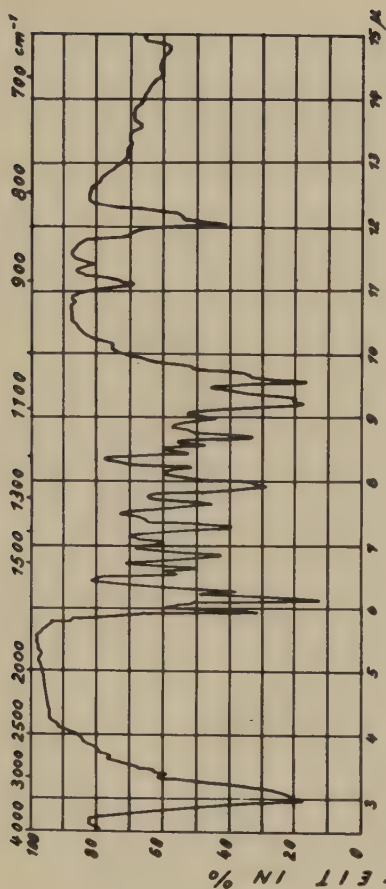


Typische Banden für Flavonglykoside treten im Bereich von  $1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$  auf, die den C-OH Schwingungen des Zuckers zuzuordnen sind. Die von uns untersuchten diastereomeren Flavanon-5- $\beta$ -D-monoglukoside, deren Konstitution auf chemischen Wege völlig geklärt war, zeigten nun im Infrarotspektrum eine Diskrepanz der Banden, die durch die sterische Anordnung allein nicht zu erklären war. Das (+)-Naringeninglukosid wies eine mittlere Bande bei  $1685 \text{ cm}^{-1}$  auf, die der erwarteten Carbonylschwingung entsprach, wenn auch die Intensität der Bande auf eine gewisse Hinderung hinwies. Die C-OH Valenzschwingungen des Zuckers lagen bei  $1045$ ,  $1072$  und  $1085 \text{ cm}^{-1}$ . Im Gegensatz dazu war die Carbonylbande des (-)-Naringeninglukosids nur noch als ganz schwaches Fragment bei  $1650 \text{ cm}^{-1}$  zu erkennen. Ebenfalls wiesen die Absorptionsmaxima des Zuckers nicht unwesentliche Veränderungen gegenüber der (+)-Verbindung auf. Das Zurückdrängen der Carbonylbande im (-)-Naringeninglukosid lässt sich nun durch eine Wasserstoffbrücke erklären, die durch Beteiligung einer OH-Gruppe des Zuckers errichtet wird. Die Stärke der Brücke entsprach fast der einer OH Substitution in 5-Stellung. (s. Spektrum des Aglykons) Durch Modellversuche an Stewart-Kalotten konnten wir die an der Bindung beteiligte OH-Gruppe des Zuckers als die zum C<sub>2</sub> des Zuckerkohlenstoffs gehörende festlegen. Wie schon vorher erwähnt, wies auch die Carbonylbande des (+)-Naringeninglukosids keine völlig freie Schwingung auf. In diesem Falle ist, wenn auch keine Wasserstoffbrücke direkt entsteht, eine Wechselwirkung zwischen dem C<sub>2</sub>-Hy-

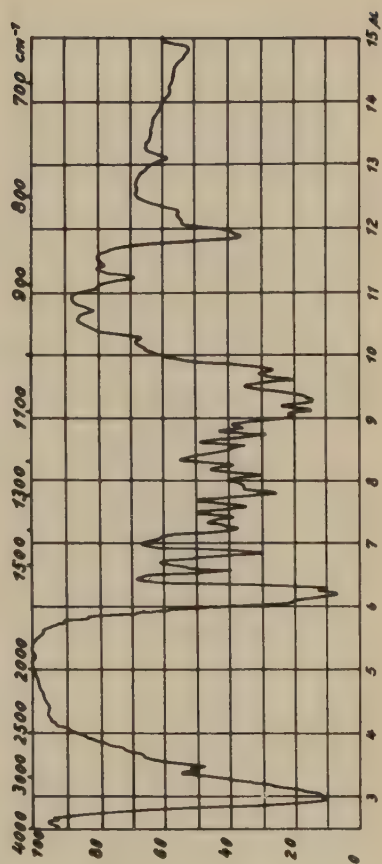
droxyl des Zuckers und der Ketogruppe des Pyronringes anzunehmen.

Die Bedingungen zur Ausbildung einer solchen Wasserstoffbrücke zwischen Zucker und Carbonylgruppe des Flavanons sind durch die Konformationsschwingungen des in Halbsesselform vorliegenden Pyronringes gegeben. (s. Abschnitt 7c)

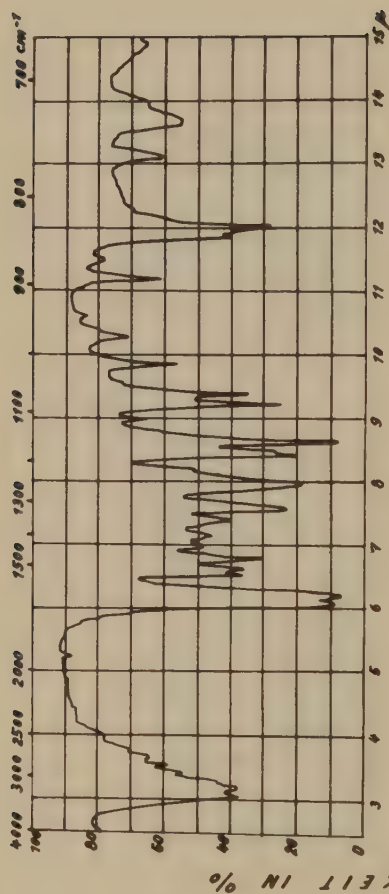




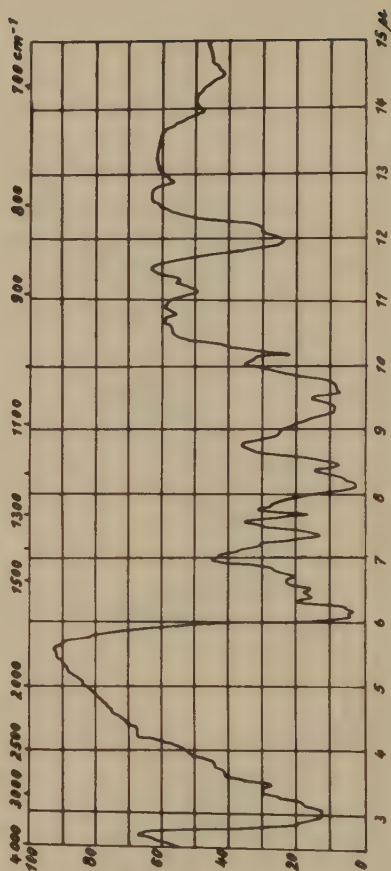
(+)-Naringenin-5-β-monoglucosid in KBr.



(-)-Naringenin-5-β-D-monoglucosid in KBr.



(+)-Naringenin in KBr.  
( nat. und synth. )



2'-4'-4'-6'-tetrahydroxychalcon-6'-monoglucosid in KBr.  
( nat. und synth. )

C. Konfiguration und IR-Spektren der beiden diastereomeren Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukoside.

Nach E.A.H. Roberts, Schmidt u. Mayer u.a. (38,40,47) ist der Pyronring in den Flavon und Flavanonmolekülen nicht planar, sondern liegt in einer Art Halbsesselform vor und ist deshalb Konformationsänderungen unterworfen. Auf Grund chemischer Erfahrungen nimmt bei Substitution einer solchen Verbindung der sperrigste Substituent stets die äquatoriale Lage ein, da diese weniger energiereich ist als die axiale. Die Konformation der übrigen Substituenten wird dadurch festgelegt. W.B. Whalley (47) stellte bei Untersuchungen an Molekülmodellen fest, dass dem Pyronring im Chromongerüst zwei Möglichkeiten zur Konformation gegeben sind. Einmal die sogenannte Bootform, bei der die Carbonylgruppe in einem Winkel von ca.  $35^{\circ}$  über oder unter die Ebene des Benzolringes schwingt, zum anderen die von den oben zitierten Autoren angenommene Halbsesselform, die eine planare, in Konjugation zum Benzolring liegende Ketogruppe fordert. Infrarotspektroskopische Untersuchungen von Simpson u. Shaw et. al. (29,41) an Flavanonen und Flavonen wiesen anhand der Carbonylfrequenz im Bereich von  $1695-1664\text{ cm}^{-1}$  die Konjugation der Carbonylgruppe mit dem Benzolring nach. Aufgrund dieser Feststellungen und der gestreckteren, energieärmeren Struktur der Halbsesselform wird dieser allgemein der Vorzug gegeben. Bei unseren Studien an Kalottenmodellen der diastereomeren Naringeninglukoside stellten wir im Einklang

mit den Infrarotspektren fest, dass bei Konformationsänderung des Pyronringes der Carbonylgruppe eine gewisse Beweglichkeit zugeordnet werden muss. Je nach Konformation zeigt die C = O-Gruppe eine deutliche Knickung entweder über oder unter die Ebene des Benzolringes. Für die Aussage über Struktur der Flavonoglykose ist diese Konformationsänderung nicht wesentlich, sie zeigt aber ihre Bedeutung bei der Betrachtung der Glykoside.

Durch die 2S-Konfiguration des (-)-Naringenin-5-β-D-monoglukosids ist die Stellung des Arylringes sowie des Wasserstoffs am C-Atom 2 definitiv festgelegt. Zunächst scheint offen zu bleiben ob dabei dem Arylring die äquatoriale oder axiale Lage zukommt. Wie schon vorher erwähnt, nimmt aber der sperrigste Substituent - im vorliegenden Fall das Seitenphenyl - immer die energieärmere Stellung ein, so dass dessen Lage als äquatorial bestimmt ist. (I)

Nur in dieser Stellung erfolgt Knickung der Carbonylgruppe unter die Ebene des Benzolringes, was in glänzender Übereinstimmung mit dem Infrarotspektrum steht; denn nur diese konformere Form lässt eine Wasserstoffbrückenbildung mit der Glukose zu. Gerade aber das Vorhandensein einer Wasserstoffbrücke ergibt sich aus dem IR-Spektrum, dass keine freie Carbonylschwingung bei  $1685\text{ cm}^{-1}$  aufweist.

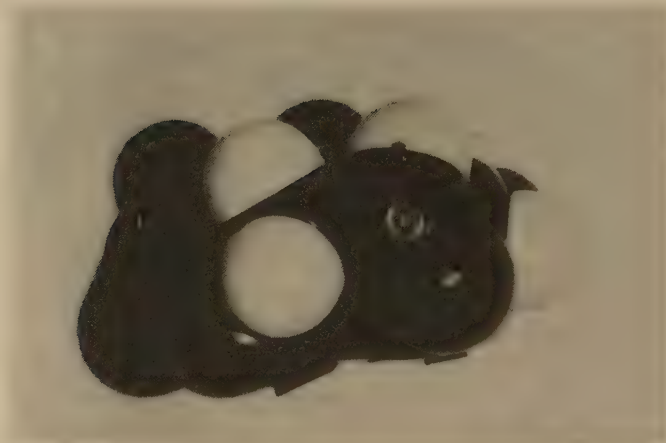
Durch Umlagerung der Substituenten am C-Atom 2 des (-)-Naringeninglukosids erhält man die 2R-Konfiguration des (+)-Naringeninglukosids (III): d.h. ohne Konformation würde jetzt dem Arylring die axiale, dem Wasserstoff die äquatoriale Lage zukommen. Diese energiereiche, instabile

Form wird nun durch Konformationsänderung in die planar stabile, energieärmere überführt. Dabei geht das Seitenphenyl in die quasiäquatoriale, der Wasserstoff in die quasiaxiale Lage über, während zwangsläufig die Carbonylgruppe über die Ebene des Benzolringes schwingt und so einer Wasserstoffbrückenbildung mit der Glukose ausweicht. (IV) Diese Aufhebung der Wasserstoffbrückenbildung zeigt das Infrarotspektrum deutlich an: Auftreten einer Bande bei  $1685\text{ cm}^{-1}$ , die einer freien Carbonylschwingung entspricht. (s. IR-Spektren)

Die Konformationsschwingung des Pyronringes im vorliegenden Fall der diastereomeren Narin-  
geninglukoside lässt bei näherer Betrachtung vermuten, dass die Wasserstoffbrückenbildung mit der in 5-Stellung verknüpften Glukose überhaupt erst die Trennung der Diastereomeren an Polyamid ermöglichte. Nach Hörhammer und Wagner (26) spielt die Ausbildung einer intramolekularen Wasserstoffbrücke eine wesentliche Rolle bei der Trennung an Polyamid.

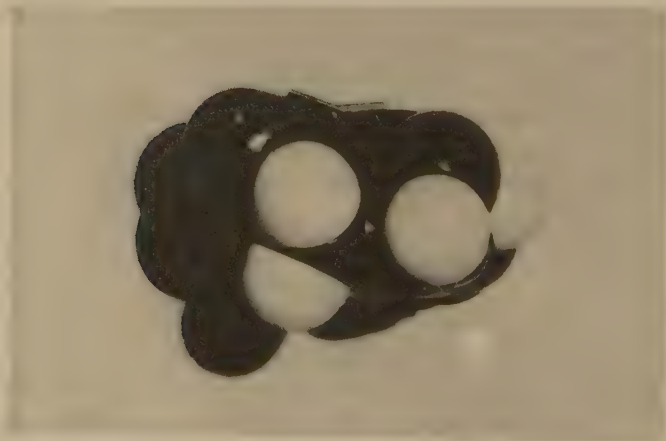
Die Abbildungen 1a und 1b zeigen die Stellung der Carbonylgruppe im Pyronring in beiden konformeren Zuständen zur besseren Übersicht ohne Seitenphenyl.

Abbildung 1a



Schwingung der C = O -Gruppe unterhalb der Ebene des Benzolringes

Abbildung 1b



Schwingung der C = O-Gruppe oberhalb der Ebene des Benzolringes

Abbildung I



(-)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid (stabil)

Abbildung II



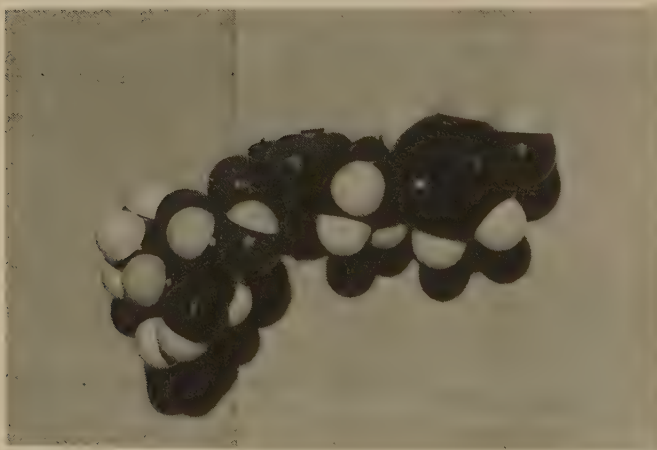
(-)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid (instabil)  
Konformere Form von I

Abbildung III



(+)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid (instabil)

Abbildung IV



(+)-Naringenin-5-β-D-monoglukosid (stabil)  
Konformere Form von III

d. Abhängigkeit des Rf-Wertes vom räumlichen Bau des Moleküls.

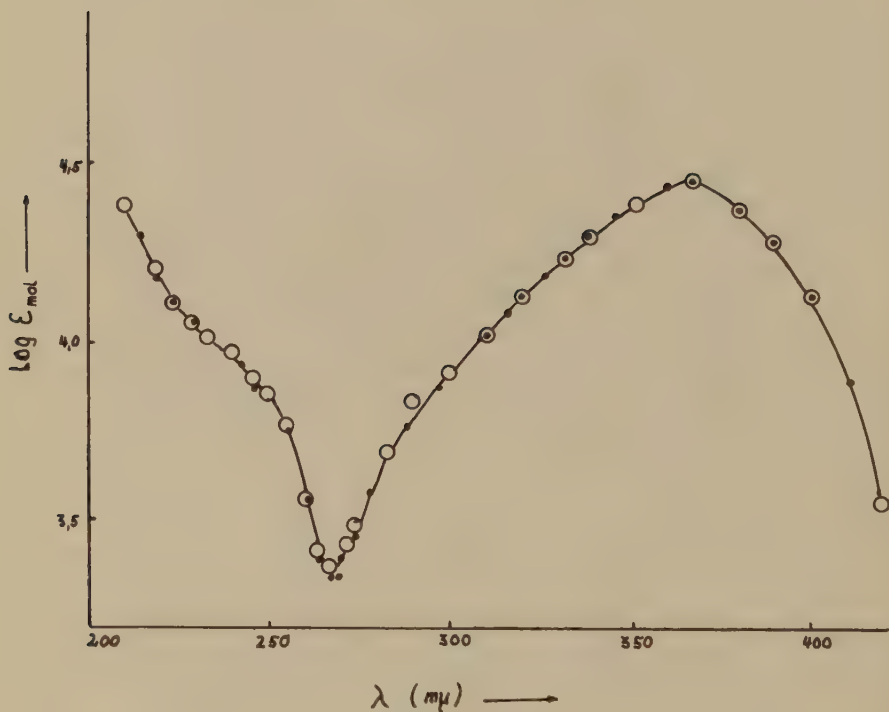
Die Steighöhe der Flavonoide im hydrophilen Medium (Eisessig - Wasser; 15:85) ist von verschiedenen Faktoren, z.B. Planarität und Löslichkeit des Moleküls, sowie von Temperatur, Anzahl der OH-Gruppen (Zucker) usw., abhängig. (13,39) Verbindungen planarer Struktur, wie sie die Flavanone darstellen, zeigen wenig Neigung, im wässrigen Medium zu wandern. Eine Änderung tritt ein, wenn sie als Glykoside vorliegen, die je nach Anzahl der OH-Gruppen des anteiligen Zuckers einen höheren Rf-Wert erreichen. Die in unserem Fall beobachteten unterschiedlichen Rf-Werte der beiden diastereomeren Naringeninglukoside lassen sich durch Betrachtung des räumlichen Baues der Verbindungen erklären:

Der tieferliegende Rf-Wert des (-)-Naringeninglukosids findet seine Deutung in der Ausbildung der intramolekularen Wasserstoffbrücke, die eine OH-Gruppe des Zuckers blockiert und damit die Laufhöhe (im hydrophilen Medium) des Glukosids herabsetzt. Ausserdem wird durch diese Anordnung die planare Lage der Molekel stabilisiert, was ebenfalls die Wanderungstendenz behindert. Das (+)-Naringeninglukosid - mit dem höheren Rf-Wert - weist keine Wasserstoffbrückenbildung zu einer OH-Gruppe der Glukose auf. Dadurch wird der hydrophile Charakter erhöht, was sich an einer höheren Wanderungsgeschwindigkeit zeigen muss. Im gleichen Sinne wirkt die weniger planare Struktur der Molekel.

### III. Das farbgebende Prinzip der Flores Stoechados.

Das von uns durch Chromatographie an einer Polyamidsäule kristallin erhaltene 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosid erwies sich im wesentlichen als das farbgebende Prinzip von *Helichrysum arenarium*. Schon D. Heise (22) legte diese Tatsache papierchromatographisch fest, doch war es ihm nicht möglich, ein kristallines Produkt - weder durch selektive Extraktion mit organischen Lösungsmitteln noch durch präparative papierchromatographische Methoden - zu erhalten. Chalkone bestimmen in der Natur relativ selten die Blütenfarbe. Man findet sie hauptsächlich bei einigen auffallend gefärbten Compositenblüten, wie z.B. bei *Carthamus tinctorius* (32), *Dahlia variabilis* (37) *Coreopsis*- und *Cosmos*-Arten. Das von uns aus *Helichrysum arenarium* isolierte Chalkonglukosid kristallisierte aus Wasser in schönen orangegelben Prismen. Es gab mit konzentrierter Salzsäure eine rote Tüpfelreaktion und löste sich in Laugen mit intensiv gelbroter Farbe. Die kristallwasserhaltige Substanz gab beim Schmelzen (Heiztischmikroskop) zwischen 100 - 105° stark Wasser ab, wobei die hellgelbe Farbe der Kristalle in ein hellbraun bis braun überging. Ab 155° hellten sich die Kristalle wieder auf, um bei 160-163° unter Zersetzung zu schmelzen. Die quantitativ durchgeführte Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure ergab 56% Aglykon, das als ( $\pm$ )-Naringenin identifiziert wurde. Der anteilige Zucker (34%) wurde als D-Glukose in der üblichen Weise durch Überführen in das Glukosazon nachgewiesen.

Die Struktur des natürlichen Helichrysum-Chalkons liess sich nun durch Vergleich des bei der Synthese des ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-mono-glukosids als Zwischenprodukt anfallenden 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosids eindeutig festlegen. Das synthetische Produkt stimmte in allen Eigenschaften (Rf-Wert, Schmelzpunkt, UV-Absorptionsspektrum) mit dem Helichrysum-Pigment überein. Auf Grund dieser Reaktionen sahen wir unsere Verbindung auch als identisch an mit dem von C. Charaux (10) aus der Rinde von *Salix purpurea* isolierten 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'-glukosid ( Salipurposid ).



○ = isoliert aus Flores Stoechados

● = synthetisiert nach Zemlen et al.

UV-Absorptionskurven von 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6<sup>+</sup>-monoglukosid

$\lambda_{max} = 370 \text{ m}\mu$  ( $\log_{mol} = 4.45$ )

$\lambda_{min} = 270 \text{ m}\mu$  ( $\log_{mol} = 3.42$ )

## G. Zusammenfassung

Erstmalig ist es uns gelungen aus den Blütenköpfen von *Helichrysum arenarium* zwei diastereomere Naringeninglukoside zu isolieren, deren Flavanonanteil 2S - beziehungsweise 2R-Konfiguration aufweist.

Das schon von D. Heise (22) erhaltene Kristallgemisch liess sich durch fraktionierte Kristallisation in zwei Komponenten zerlegen.

### Komponente I

wurde aus dem in absoluten Alkohol leichtlöslichen Anteil, der ca. 85 - 90% ausmachte, als (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid, Schmp. 160°, papierchromatographisch als einheitliche Verbindung erhalten.

### Komponente II,

die im Lösungsmittel schwerlösliche Verbindung, Schmp. 227°, erwies sich in allen Eigenschaften mit dem nach Zemplen und Bogner (48,49) synthetisierten ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid als identisch. Hiermit wurde gemäss Arbeitshypothese bewiesen, dass die Komponente II aus einem zu gleichen Teilen zusammengesetzten Gemisch der Diastereomeren (+)- und (-)-Naringeninglukosid besteht.

Die Trennung der schwerlöslichen Komponente II und des Syntheseproduktes wurde an einer Polyamidsäule mittels Adsorptionschromatographie durchgeführt. Der rascher wandernde Anteil wurde aus zahlreichen Ansätzen papierchromatographisch rein erhalten. Schmelzpunkt 244 - 247° Zersetzung. Vorsichtige, milde Hydrolyse in Glykol - Schwefelsäure führte zu rechtsdrehendem

### Naringenin.

Absorptions-und Infrarotspektren der beiden diastereomeren Naringeninglukoside wurden aufgenommen. Während ihre UV-Spektren nach Lage und Höhe der Banden übereinstimmten, wiesen die IR-Spektren charakteristische Unterschiede auf. Eine Deutung der Unterschiede lässt sich durch Annahme der 2S-Konfiguration des (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids, Schmp.  $160^{\circ}$  (Seitenphenyl äquatorial (e), Wasserstoff axial (a), intramolekulare Wasserstoffbrückenbildung möglich) und der 2R-Konfiguration des (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids, Schmp.  $244 - 247^{\circ}$  (Seitenphenyl quasi-äquatorial (qe), Wasserstoff quasi-axial (qa), Wasserstoffbrückenbildung nicht möglich), erklären.

Für die richtige Zuordnung der beiden diastereomeren Naringeninglukoside spricht das papierchromatographische Verhalten, da, wie erwartet, das (+)-Naringeninglukosid im hydrophilen Medium rascher wandert.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde das 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosid als das farbgebende Pigment der Flores Stoechados erkannt, isoliert und durch Vergleich mit dem synthetischen Produkt identifiziert. Seine Konstitution ergab sich ferner durch katalytische Hydrierung zum Phlorrhizin.

D. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Isolierung und Charakterisierung von (-)-  
und (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid aus  
den Blütenköpfen von *Helichrysum arenarium*.

130 g Flores Stoechados wurden mit 1,5 Liter Petroläther zur Entfernung lipoidlöslicher Substanzen 8 Stunden im Soxleth extrahiert, der Petroläther abgegossen und der abgepresste Drogenrückstand mit 1,5 Liter Aceton weitere 24 Stunden ausgezogen. Der Acetonextrakt wurde bis zur Trockene eingeengt und darauf mit 100 ml heissem Wasser aufgenommen. Nach Klären und Filtrieren wurde der wässrige Extrakt über eine Chromatographiersäule von 2 cm  $\varnothing$  geschickt, die in einer Schichthöhe von 20 cm mit Polyamidpulver (Versuchsprodukt PP 15 Sp der BASF) gefüllt war. Das Pulver wurde in wässriger Suspension in die Säule eingeschlämmt und nach dem Absitzen mit Wasser und dann mit 50%igem Methanol gewaschen, bis das abtropfende Methanol keinen Rückstand mehr hinterliess. Eluiert wurde mit 50%igem Methanol, die Tropfgeschwindigkeit betrug ca. 12 -15 Tropfen pro Minute. Im Tageslicht zeigten sich drei klar voneinander getrennte Zonen, die sich von oben nach unten gliederten:

- I eine 8 cm hohe gelbe Zone
- II eine 4 cm breite, hellgelbe Zone
- III eine 1 cm schmale, dunkelgelbe Zone

Die eluierten Zonen wurden einzeln aufgefangen und getrennt behandelt.

Zone II wurde im Vakuum auf die Hälfte ihres Volumens eingeengt und zur Kristallisation 48 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Das aus -

gefallene Kristallgemisch wurde mehrmals unter Verwendung von Norit-Kohle aus 30%igem Methanol umkristallisiert. Beim Schmelzen unter dem Heitztischmikroskop der Fa. Leitz zeigte sich, dass es sich nicht um eine einheitliche Substanz handelte. Der weitaus grössere Teil der Kristalle schmolz bei  $160 - 165^{\circ}$ , während nur ein geringer Teil sich bei  $225 - 236^{\circ}$  zersetzte. Die aufsteigende Papierchromatographie (Papier Schleicher u. Schüll 2043 bM) im Laufmittel Eisessig-Wasser (15:85) zeigte zwei Flecke folgender Laufhöhe,

$$R_f = 0,52 ; R_f = 0,63$$

von denen sich aber der untere Fleck durch bedeutend stärkere Farbintensität auszeichnete. ( Entwicklung der Flecken mit 1%iger methanolischer KOH).

Das Kristallgemisch wurde mit absolutem, heissem Äthanol behandelt, wobei der grösste Teil in Lösung ging und ein geringer Teil ungelöst zurück blieb, der abfiltriert wurde. Die abfiltrierte, alkoholische Lösung wurde im Verdampfungsapparat bis fast zur Trockene eingeengt, mit 30%igem Äthanol aufgenommen und zur Kristallisation in den Kühlschrank gestellt. Nach 24 Stunden hatten sich farblose Kristallnadeln ausgeschieden, die abgenutscht und nochmals aus 30%igem Äthanol umkristallisiert wurden.

Ausbeute: 0,34 g      Schmelzpunkt:  $160^{\circ}$

$R_f = 0,51$  ( aufsteigende Papierchromatographie,  
Papier Schleicher u. Schüll bM 2043,  
Laufmittel Eisessig-Wasser (15:85) )

Die in absolutem Äthanol ungelösten Kristalle wurden zur Reinigung aus 70%igem Äthanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,029 g      Schmelzpunkt: 227°  
Aufsteigende Papierchromatographie (Papier Schleicher u. Schüll 2043 bM ), Laufmittel Eisessig-Wasser (15:85) ergab zwei Flecke mit folgenden Rf-Werten:

Rf = 0,51 ; Rf = 0,63

Die UV-Absorptionsspektren beider Verbindungen stimmten nach Lage und Höhe der Banden überein.

$\lambda_{\max_1} = 225 \text{ m}\mu$       E spez. = 62,5

$\lambda_{\max_2} = 283,5 \text{ m}\mu$       E spez. = 39,3

Für das eigentliche Ziel der Arbeit war es angebracht, eine grössere Menge von (-)- und (+)-Naringenin-5-ß-D-monoglukosid darzustellen. Dank der freundlichen Hilfe der Firma Schering AG, Berlin, war es möglich 10 kg Flores Stoechados in einem Zuge aufzuarbeiten. Hierzu wurden die 10 kg Droge mit 150 liter Petroläther extrahiert, das Extraktionsmittel abgossen und der Rückstand mit weiteren 150 Litern Aceton ausgezogen. Das abdekantierte und abgepresste Aceton wurde bis zur Trockene eingengt und der zurückbleibende braune, harzige Rest, mit 10 Liter warmen Wasser aufgenommen. Die wässrige Aufschlämmung wurde einige Tage zum Absitzen beiseitegestellt und dann filtriert. Die ausgefallenen braunen Massen (Harze etc.) wurden verworfen. Aus dem

Filtrat kristallisierte im Laufe einiger Tage ein Niederschlag aus, der nach Abfiltrieren und mehrmaligem Umkristallisieren aus 30%igem Alkohol unter Verwendung von Norit-Kohle, sich als (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid erwies.

Ausbeute: 41 g            Schmelzpunkt: 160°

Rf = 0,51

System Eisessig-Wasser (15:85), aufsteigend chromatographiert (Papier Schleicher u. Schüll bM 2043).

## 2. Partielle Racemisierung von (-)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid zur (+)-Verbindung.

4 g (-)-Naringeninglukosid wurden in 100 ml Wasser mit 12 g Natriumacetat in der Wärme gelöst und eine dreiviertel Stunde auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Die orangegelbe Lösung wurde mit 50 ml Wasser verdünnt, in den Kühlschrank gestellt, wobei beim Abkühlen die Lösung sich zu einem helleren gelb verfärbte. Nach 24 Stunden wurde der kristalline, leicht gelbliche Niederschlag abgesaugt, gewaschen und dreimal aus 30%igem Äthanol umkristallisiert. Die gereinigten Kristalle wurden nun mit heissem, absolutem Äthanol behandelt, wobei der grössere Teil in Lösung ging. Der abfiltrierte ungelöste Teil wurde aus 70%igem Äthanol nochmals umkristallisiert und die ausgefallenen, blassgelben Nadeln im Exsikkator getrocknet.

Ausbeute: 0,31 g            Schmelzpunkt: 226 - 227°

3. Partielle Synthese des (+)-Naringeninglukosids über das aus der (-)-Verbindung gewonnene Chalkonglukosid.

10 g (-)-Naringeninglukosid wurden mit 40 ml Äthanol gut verrührt und unter Eiskühlung mit 200 ml 25%iger Kalilauge langsam versetzt. Dabei ging das Glukosid mit tiefroter Farbe in Lösung. Nach einer Stunde wurde unter weiterer Eiskühlung 200 ml Wasser hinzugegeben und mit 25%iger Salzsäure auf pH 1 angeäuert, wobei die Lösung nach Hellgelb umschlug. Einige Stunden später schieden sich goldgelbe Kristalle aus, die nach 24 stündigem Aufbewahren im Kühlschrank abgesaugt, mit Wasser gewaschen und zweimal aus heissem Wasser umkristallisiert wurden. Die gelben Prismen zersetzten sich bei  $160 - 163^{\circ}$  und färbten sich auf Zusatz von konzentrierter Salzsäure kirschrot.

Ausbeute: 8,0 g

UV-Absorptionskurve:

$$\lambda_{\max} = 370 \text{ m}\mu$$

$$\lambda_{\min} = 270 \text{ m}\mu$$

6 g der oben erhaltenen Verbindung wurden mit 24 g Natriumacetat in 150 ml Wasser in der Wärme gelöst und eine Stunde lang auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Versetzen mit 100 ml Wasser wurde die Lösung zum Kristallisieren in den Kühlschrank gestellt und nach 48 Stunden der entstandene Niederschlag abgesaugt und mit viel Wasser gewaschen. Die erhaltenen Kristalle wurden noch dreimal aus

70%igem Äthanol umkristallisiert und getrocknet.

Ausbeute: 2,1 g            Schmelzpunkt: 227°

4. Vollsynthese des (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids nach Zemplen und Bognar et al.  
(8,19,48,49)

a. Phloracetophenon.

In eine 250 ml Saugflasche, die mit einem Calciumchloridrohr und einem Rückschlagventil versehen ist, wurden 30 g bei 120° getrocknetes (14 Stunden) Phloroglucin, 20 g wasserfreies, frisch über Phosphorpentoxyd destilliertes Acetonitril, 6 g fein gepulvertes, wasserfreies Zinkchlorid und 100 ml über Natrium getrockneter Äther gegeben. Die Flasche wurde in einer Eis-Salz-Kältemischung gekühlt und gelegentlich geschüttelt, während aus einer HCl-Bombe getrocknetes HCl zwei Stunden lang hindurchgeleitet wurde. Nach dem Einleiten wurde die fest verschlossene Flasche für 24 Stunden in den Kühlschrank gestellt und nach dieser Zeit nochmals zwei Stunden lang HCl eingeleitet. Die vorher gelbe Farbe der Flüssigkeit war nach orange umgeschlagen und ein gleichfarbiger Niederschlag begann sich abzusetzen. Nach dreitägigem Stehen im Kühlschrank war die Fällung des sich gebildeten Ketimid-Hydrochlorids vollständig. Der Äther wurde abdekantiert und der Niederschlag zweimal mit 30 ml trockenem Äther gewaschen. Das in einen 2-Literkolben überführte

Ketimid wurde mit 1 Liter Wasser aufgenommen und am Rückflusskühler über einem Drahtnetz zwei Stunden stark gekocht, wobei es mit gelber Farbe in Lösung ging und zugleich zum Phloracetophenon verseift wurde. Zur Reinigung wurden 4 g Norit-Kohle hinzugefügt und nochmals 5 Minuten stark erhitzt. Die heisse Lösung wurde abgenutscht, wobei sich schon beim Abkühlen die blassgelben Kristalle des Phloracetophenons bildeten. Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abgesaugt, gewaschen, noch zweimal aus heissem Wasser umkristallisiert und 4 Stunden bei  $120^{\circ}$  getrocknet.

Ausbeute: 15 g            Schmelzpunkt:  $218 - 219^{\circ}$

#### b. 4-Benzoylphloracetophenon.

10 g Phloracetophenon wurden in 200 ml einer 2,1%igen Kalilauge gelöst und auf  $-1^{\circ}$  abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 8,4 g Benzoylchlorid in sechs Portionen unter starkem Schütteln eingetragen. Das Schütteln wurde 15 Minuten lang fortgesetzt und danach die Mischung in 250 ml einer gesättigten Bikarbonatlösung gegossen. Nach zwei Stunden wurde der Rückstand abgesaugt, mit Wasser gewaschen und dann in Äther gelöst. Die ätherische Lösung wurde zweimal mit je 100 ml 10%iger Sodalösung ausgezogen, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdunsten des Äthers blieb 4-Benzoylphloracetophenon als fester Rückstand zurück, welches aus Methanol mehrmals umkristallisiert wurde. Die länglichen Plättchen

schmolzen bei 210 - 211°.

Ausbeute: 8,4 g

Das erhaltene Produkt löste sich vollkommen in Benzin, war fast unlöslich in kaltem Alkohol und gab mit alkoholischer Eisenchloridlösung eine rotbraune Färbung.

c. 2-tetraacetyl-D-glukosido - 4 -benzoylphloracetophenon.

7,2 g Benzoylphloracetophenon wurden unter Eiskühlung in eine Lösung von 2,4 g KOH in 36 ml Wasser eingetragen, dann ebenfalls unter Eiskühlung, mit einer Lösung von 17 g Acetobromglukose in 36 ml Aceton, versetzt. Nach Zusatz von weiteren 30 ml Aceton entstand eine gelblich homogene Lösung, die 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Während dieser Zeit schieden sich einzelne, lange farblose Nadeln aus. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde das Gemisch während der letzten 5 Stunden auf einer Schüttelapparatur geschüttelt und dann in 1 Liter 0,15%ige Essigsäure gerührt. Die entstandene Fällung war zunächst klebrig, wurde aber nach 20 Stunden hart und liess sich zu einem Pulver verreiben. Dieses wurde mehrmals gewaschen (Wasser) und dann in 100 ml warmen Methylalkohol gelöst. Nach 8 Stunden wurde die kristalline Ausscheidung abgesaugt und zur weiteren Reinigung in 30 ml Chloroform erwärmt. Dabei ging die gesuchte Verbindung in Lösung, während überschüssiges

Phloracetophenon ungelöst blieb. Es wurde abfiltriert und mit einigen ml Chloroform nachgewaschen. Die auf ungefähr 5 ml eingeeengte Lösung wurde mit 50 ml warmen Methanol versetzt, worauf sehr schnell Kristallisation von seidenglänzenden, farblosen langen Nadeln begann. Nach 12 Stunden wurde abgenuzt und drei Stunden bei 60° getrocknet.

Ausbeute: 4,2 g      Schmelzpunkt: 176 - 177°

Die Verbindung war löslich in kaltem Aceton, Chloroform, Pyridin und warmen Methanol. Schwerlöslich in kaltem Methanol und Äthanol.

d. 2'-4'-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'-β-D-monoglukosid.

3 g mehrmals umkristallisiertes 2-tetraacetyl-D-glukosido-4-benzoylphloracetophenon wurde mit 60%iger Kalilauge verseift und mit 0,75 g p-Oxybenzaldehyd kondensiert. Nach 48 stündigem Schütteln auf der Maschine und dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde die braunrote Lösung unter Eiskühlung mit 25%iger Salzsäure langsam kongosauer eingestellt. Der Arbeitsvorschrift entsprechend sollte nach 6-stündigem Stehen im Kühlschrank das Chalkon auskristallisiert sein, doch war lediglich freie Benzoessäure ausgefallen, die abgenuzt wurde. Da auch jetzt der Ansatz keine Tendenz zum Kristallisieren zeigte, wurde die Lösung mit 250 ml Äther in Anteilen von je 50 ml ausgeäthert,

ziemlich schnell kristallisierten nunmehr aus dem Äther die langen, gelben Prismen des Chalkonkukosides aus. Die Kristalle wurden abgesaugt, aus Wasser zweimal umkristallisiert und bei 40° getrocknet.

Ausbeute: 1,04 g    Schmelzpunkt: 160-163°  
(Zersetzung)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{20} = - 8,6^{\circ}$  (Methanol)

UV-Absorptionskurven:

$$\lambda_{\max} = 370 \text{ m}\mu \text{ (log } E_{\text{mol}} = 4,45)$$

$$\lambda_{\min} = 270 \text{ m}\mu \text{ (log } E_{\text{mol}} = 3,42)$$

Rf = 0,65; aufsteigende Papierchromatographie  
(Papier Schleicher und Schüll 2043 bM),  
Laufmittel Eisessig:Wasser (6:4).

e. ( $\pm$ )-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosid.

0,4 g des unter d beschriebenen Chalkonkukosides wurden mit 1,6 g Natriumacetat vermischt und in 10 ml Wasser auf dem Wasserbad gelöst. Nach halbstündigem Erhitzen hellte sich die dunkelgelbe Farbe der Lösung etwas auf und nach Hinzufügen von weiteren 10 ml Wasser wurde die Lösung zum Kristallisieren in den Kühlschrank gestellt. Die nach 48 Stunden ausgefallenen Kristalle wurden abgenutscht, mit Wasser gewaschen und aus 30%igem Methanol mit Kohle umkristallisiert. Erhalten wurden fast farblose Nadelchen vom Schmelzpunkt 227°.

Ausbeute: 0,12 g

Der Mischschmelzpunkt mit natürlichem ( $\pm$ )-Naringeninglukosid zeigte keine Depression.

Aufsteigende Papierchromatographie (Papier Schleicher und Schüll bM 2043) im Laufmittel Eisessig-Wasser (15:85) zeigte zwei Flecken mit den Laufhöhen:

$$R_f = 0,51 \text{ und } R_f = 0,63$$

UV-Absorptionskurven:

$$\lambda_{\max_1} = 225,0 \text{ m}\mu$$

$$\lambda_{\max_2} = 283,5 \text{ m}\mu$$

5. Trennung der ( $\pm$ )-Verbindung in die beiden Diastereomeren an einer Polyamidsäule.  
(Polyamidpulver der BASF, Versuchsprodukt PP 15 Sp)

In eine Chromatographiesäule von 3 cm  $\varnothing$  und 40 cm Höhe wurde das in Wasser suspendierte Polyamidpulver bis zu einer Höhe von 18 cm eingeschlämmt und nach dem Absitzen zuerst mit Wasser und dann mit 70%igem Äthanol gewaschen, bis der abtropfende Alkohol keinen Rückstand mehr zeigte. Danach wurde nochmals mit Wasser nachgewaschen. Auf die so vorbereitete Säule wurden 200 mg in 40 ml heissem 70%igem Äthanol gelöste Substanz gegeben und nach dem Einsickern mit dem gleichen Lösungsmittel bei Zimmertemperatur eluiert. Die Tropfgeschwindigkeit betrug ca. 12 Tropfen pro Minute. Da eine Trennung weder im Tageslicht noch unter der Analysenquarzlampe verfolgt werden konnte, wurde das Eluat nach dem ersten positiven Reduktions-

test auf Flavanone nach Pew (36) - Magnesium und 25%ige Salzsäure - in Fraktionen von 2 bis 3 ml in Reagensgläsern aufgefangen und bei Zimmertemperatur zur Kristallisation beiseitegestellt. Die Eluationszeit betrug ungefähr 10 Stunden, verbraucht wurden in dieser Zeit 500 ml 70%iges Äthanol. Nach einigen Tagen begann die Ausscheidung von kristallinen Produkten, die unter dem Mikroskop deutlich als längliche, fast vollkommen farblose Kristallnadeln erkennbar waren. Zur Vervollständigung der Kristallisation wurde noch eine Woche gewartet, dann die einzelnen Fraktionen abdekantiert und die verbleibenden Kristalle mit heissem Äthanol gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die von 1 - 16 gekennzeichneten Kristallisationsprodukte zeigten beim Schmelzen unter dem Heiztischmikroskop von Leitz folgendes Verhalten:

Fraktion 1 -3:

Bräunung ab  $243^{\circ}$ ; Zersetzung bei  $244 - 247^{\circ}$ .

Fraktion 4 - 10:

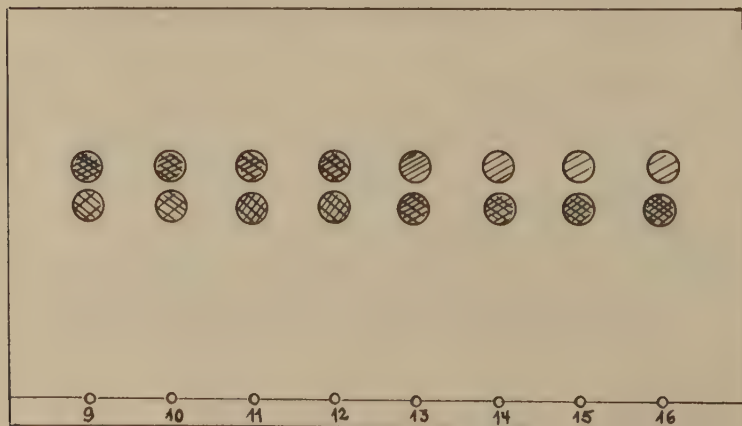
Ziehender Schmelzpunkt von  $232 - 241^{\circ}$ .

Fraktion 11 - 16:

Zwei klar voneinander abgegrenzte Schmelzpunkte. Ein Bruchteil schmolz bei  $160 - 163^{\circ}$ ; der Rest zersetzte sich zwischen  $227$  und  $234^{\circ}$ .

Die Untersuchung bei aufsteigender Papierchromatographie (Papier Schleicher und Schüll 2043 bM) im Laufmittel Eisessig - Wasser (15:85), ergab folgendes Bild:  
(Entwicklung mit 3%iger methanolischer KOH)

Schema der Chromatogramme



Fleck 1 - 3:

Einheitlich;  $R_f = 0,63$

Flecke 4 - 10:

$R_f = 0,51$  und  $R_f = 0,63$ ; die Farbintensität der oberen Flecke ist stärker ausgeprägt.

Flecke 11 - 12:

$R_f = 0,51$  und  $R_f = 0,63$ ; gleichmässig stark entwickelte Flecke.

Flecke 13 - 16:

$R_f = 0,51$  und  $R_f = 0,63$ ; die unteren Flecke treten deutlicher hervor.

Die Kristalle der Fraktionen 1 - 3 wurden vereinigt und gewogen.

Ausbeute: 18 mg.

Nach sechsmaliger Wiederholung des oben beschriebenen Versuchs, konnten 105 mg des (+)-Naringenin-5- $\beta$ -D-monoglukosids isoliert werden. Die Fraktionen 4 - 16 wurden ebenfalls vereinigt und mit heissem absolutem Äthanol behandelt, wobei das (-)-Naringeninglukosid in Lösung ging und eine etwas angereicherte Form der (+)-u. ( $\pm$ )-Verbindung zurückblieb, die zur weiteren Auftrennung verwendet wurde. Die Lösung des (-)-Naringeninglukosides wurde im Vakuum bis fast zur Trockene eingeengt, mit 30%igem Methanol aufgenommen und für 48 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Die ausgefallenen Kristalle wurden abgesaugt, mit Alkohol und Wasser ge-

waschen und im Exsikkator getrocknet.

Ausbeute: 6 mg.

6. Enzymatische Hydrolyse der diastereomeren  
Naringeninglukoside.

100 mg (-)-Naringeninglukosid wurden in 150 ml einer Essigsäure-Acetatpufferlösung ( 1 Teil n/10 Essigsäure, 2 Teile n/10 Natriumacetatlösung; pH = 5 ) suspendiert und mit 20 mg  $\beta$ -Glukosidase versetzt. Der Ansatz wurde auf 50° erwärmt und unter Konstanthaltung der Temperatur 16 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Zur Isolierung der Spaltprodukte wurde 5 mal mit je 25 ml Äther ausgeschüttelt. Nach Trocknen und Vertreiben des Lösungsmittels blieb ein schmutzigweisser kristalliner Rückstand zurück, der aus 70%igem Äthanol umkristallisiert wurde. Die im Exsikkator getrockneten, farblosen Kristalle schmolzen bei 251° und zeigten mit authentischem Naringenin im Mischschmelzpunkt keine Depression.

Ausbeute: 5 mg.

Papierchromatographisch zeigte sich im System Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) gleiche Höhe der Rf-Werte.

Rf = 0,93

Ein nach S.V. Ting (44) durchgeführter enzymatischer Hydrolyseversuch in einem Zitronensäure - NaOH-Puffer (pH = 4), Temperatur zwischen 50 und 60°, zeigte ebenfalls keine besseren Ergebnisse.

7. Milde Säurehydrolyse in Glykol - Schwefelsäure.

a. (-)-Naringeninglukosid

150 mg der (-)-Verbindung wurden in einer Lösung von 15 ml Glykol und 0,25 ml Schwefelsäure in der Wärme gelöst und 15 Minuten auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die gelbgefärbte Lösung mit 30 ml Wasser versetzt und 6 mal mit je 30 ml Äther ausgeschüttelt. Die über Natriumsulfat getrocknete Ätherausschüttelung wurde abgedampft und der verbleibende nahezu farblose Rückstand einmal aus 70%igem Äthanol und noch 2 mal aus 30%igem Äthanol umkristallisiert. Die erhaltenen farblosen Kristallnadeln schmolzen bei 253° und zeigten keine Depression mit authentischem Naringenin. Mschmp.: 251°

Ausbeute: 65 mg.

Zur Reinheitsprüfung auf Zucker wurde die Substanz mit dem Anthronreagenz ( 0,2% Anthron in konz. Schwefelsäure ) getestet.

b. (+)-Naringeninglukosid

60 mg (+)-Naringeninglukosid wurden unter denselben Bedingungen wie unter a) beschrieben, hydrolisiert.

Ausbeute: 23 mg                      Schmelzpunkt: 254°

Reinheitsprüfung auf Zucker wie unter a) durchgeführt.

c. (+)-Naringeninglukosid

150 mg der Verbindung nach a) hydrolisiert  
ergaben:

Ausbeute: 67 mg                      Schmelzpunkt: 252°

Reinheitsprüfung auf Zucker wie schon be-  
schrieben ausgeführt.

8. Spezifische Drehung der unter 7a-c erhal-  
tenen Aglyka.

Die Messung der Drehwerte wurde dank der  
freundlichen Genehmigung der Fa. Schering A.G.<sup>++</sup>  
Berlin, mit einer eigens für die Fa. entwickel-  
ten Sonderanfertigung eines photoelektrischen  
Präzisionspolarisationsgerätes der Fa. Leitz  
vorgenommen.

(+)-Naringenin:

Schmp.: 254°

Spez. Drehung:

(15 mg in 3 ml Äthanol)

$$[\alpha]_D^{21} = 8,9^{\circ}$$

(-)-Naringenin:

Schmp.: 253°

Spez. Drehung:

(50 mg in 10 ml Äthanol)

$$[\alpha]_D^{21} = - 11,6^{\circ}$$

(±)-Naringenin:

Schmp.: 251°

Spez. Drehung:

(50 mg in 10 ml Äthanol)

$$[\alpha]_D^{21} = \pm 0^{\circ}$$

Spezifische Drehung der optisch aktiven Naringeninglukoside.

(+)-Naringeninglukosid:

Schmp.: 244 - 247°

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{21} = - 104,6^\circ$   
(25 mg in 10 ml Äthanol)

(-)-Naringeninglukosid:

Schmp.: 160°

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{20} = - 118,4^\circ$   
(50 mg in 10 ml Äthanol)

(<sup>±</sup>)-Naringeninglukosid:

Schmp.: 227°

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{21} = - 110,5^\circ$   
(50 mg in 10 ml Äthanol)

---

++ Für die Durchführung dieser Messungen bin ich Herrn Dipl.-Ing. J. Huber, Leiter des analytischen Kontrollabors der Fa. Schering A.G., zu grossem Dank verpflichtet.

## 9. Infrarotspektren

Die Infrarotspektren wurden mit dem Beckmann IR4 Infrared Spectrophotometer aufgenommen. Spektroskopiert wurden die Substanzen in Form von Kaliumbromidpresslingen.

| (-)-Naringeninglukosid |        |    | (+) -Naringeninglukosid |        |    |
|------------------------|--------|----|-------------------------|--------|----|
| 1650 cm <sup>-1</sup>  | 6,06 u | ss | 1685 cm <sup>-1</sup>   | 5,92 u | m  |
| 1620 cm <sup>-1</sup>  | 6,16 u | st | 1630 cm <sup>-1</sup>   | 6,12 u | st |
| 1585 cm <sup>-1</sup>  | 6,30 u | m  | 1595 cm <sup>-1</sup>   | 6,26 u | s  |
| 1525 cm <sup>-1</sup>  | 6,55 u | m  | 1530 cm <sup>-1</sup>   | 6,54 u | s  |
| 1460 cm <sup>-1</sup>  | 6,85 u | st | 1510 cm <sup>-1</sup>   | 6,64 u | m  |
| 1375 cm <sup>-1</sup>  | 7,27 u | m  | 1462 cm <sup>-1</sup>   | 6,86 u | m  |
| 1340 cm <sup>-1</sup>  | 7,46 u | m  | 1420 cm <sup>-1</sup>   | 7,05 u | m  |
| 1318 cm <sup>-1</sup>  | 7,60 u | m  | 1380 cm <sup>-1</sup>   | 7,25 u | m  |
| 1280 cm <sup>-1</sup>  | 7,82 u | m  | 1350 cm <sup>-1</sup>   | 7,40 u | ss |
| 1235 cm <sup>-1</sup>  | 8,10 u | m  | 1315 cm <sup>-1</sup>   | 7,61 u | m  |
| 1210 cm <sup>-1</sup>  | 8,26 u | m  | 1265 cm <sup>-1</sup>   | 7,91 u | st |
| 1170 cm <sup>-1</sup>  | 8,55 u | m  | 1220 cm <sup>-1</sup>   | 8,20 u | s  |
| 1145 cm <sup>-1</sup>  | 8,73 u | m  | 1185 cm <sup>-1</sup>   | 8,44 u | s  |
| 1130 cm <sup>-1</sup>  | 8,85 u | m  | 1166 cm <sup>-1</sup>   | 8,56 u | s  |
| 1110 cm <sup>-1</sup>  | 9,10 u | m  | 1153 cm <sup>-1</sup>   | 8,65 u | m  |
| 1096 cm <sup>-1</sup>  | 9,14 u | st | 1115 cm <sup>-1</sup>   | 8,97 u | s  |
| 1078 cm <sup>-1</sup>  | 9,28 u | st | 1085 cm <sup>-1</sup>   | 9,22 u | st |
| 1066 cm <sup>-1</sup>  | 9,37 u | ss | 1072 cm <sup>-1</sup>   | 9,32 u | ss |
| 1038 cm <sup>-1</sup>  | 9,63 u | m  | 1045 cm <sup>-1</sup>   | 9,57 u | st |
| 1022 cm <sup>-1</sup>  | 9,78 u | m  |                         |        |    |

(+)-, (-)-u. ( $\pm$ )-Naringenin

Chalkonglukosid  
nat. und synth.

|                       |           |                       |           |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| 1640 $\text{cm}^{-1}$ | 6,10 u st | 1640 $\text{cm}^{-1}$ | 6,10 u st |
| 1620 $\text{cm}^{-1}$ | 6,20 u st | 1620 $\text{cm}^{-1}$ | 6,20 u st |
| 1530 $\text{cm}^{-1}$ | 6,54 u m  | 1560 $\text{cm}^{-1}$ | 6,41 u s  |
| 1510 $\text{cm}^{-1}$ | 6,64 u m  | 1525 $\text{cm}^{-1}$ | 6,55 u s  |
| 1470 $\text{cm}^{-1}$ | 6,81 u m  | 1490 $\text{cm}^{-1}$ | 6,72 u m  |
| 1430 $\text{cm}^{-1}$ | 7,00 u s  | 1358 $\text{cm}^{-1}$ | 7,36 u m  |
| 1395 $\text{cm}^{-1}$ | 7,16 u s  | 1305 $\text{cm}^{-1}$ | 7,69 u st |
| 1350 $\text{cm}^{-1}$ | 7,40 u s  | 1230 $\text{cm}^{-1}$ | 8,13 u m  |
| 1320 $\text{cm}^{-1}$ | 7,58 u m  | 1178 $\text{cm}^{-1}$ | 8,49 u m  |
| 1255 $\text{cm}^{-1}$ | 7,95 u m  | 1070 $\text{cm}^{-1}$ | 9,35 u m  |
| 1185 $\text{cm}^{-1}$ | 8,44 u st | 1040 $\text{cm}^{-1}$ | 9,62 u m  |
| 1160 $\text{cm}^{-1}$ | 8,62 u st | 1030 $\text{cm}^{-1}$ | 9,71 u ss |
| 1115 $\text{cm}^{-1}$ | 8,97 u s  | 980 $\text{cm}^{-1}$  | 10,20 u m |
| 1086 $\text{cm}^{-1}$ | 9,22 u st |                       |           |
| 1066 $\text{cm}^{-1}$ | 9,37 u m  |                       |           |
| 1015 $\text{cm}^{-1}$ | 9,85 u m  |                       |           |

Es bedeuten: st = stark, m = mittel, s = schwach,  
ss = sehr schwach

Die Banden des (+) und des ( $\pm$ )-Glukosides sind identisch. Ebenso stimmen die Banden des natürlichen wie des synthetischen Chalkonglukosides überein. Die Banden der Aglyka sind identisch.

10. Isolierung und Identifizierung des natürlichen Helichrysum-Chalkons.

Das Chalkonglukosid ( 2'-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosid ) wurde aus der langsam wandernden Zone I ( s.Abschnitt 1 ) auf einfache Weise isoliert. Schon während des Einengens im Vakuum schieden sich schöne orangegelbe Kristalle aus, die abgenußt und zweimal aus heissem Wasser umkristallisiert wurden.

Ausbeute: 0,47 g

a. Verhalten beim Schmelzen und Farbreaktionen.

Die kristallwasserhaltige Substanz gab beim Schmelzen zwischen 100 und 105° stark Wasser ab und die hellgelbe Farbe der Kristalle ging dabei in ein hellbraun bis braun über. Ab 155° hellten sich die Kristalle wieder auf, um bei 160 - 163° unter Zersetzung zu schmelzen. In konzentrierter Salzsäure färbte sich die Verbindung kirschrot und löste sich in alkoholischer Kalilauge mit gelbroter bis gelbbrauner Farbe.

b. Rf-Wert

Bei aufsteigender Papierchromatographie (Papier Schleicher und Schüll 2043 bM) im Laufmittel Eisessig - Wasser (6:4) zeigte die Sub-

stanz folgende Laufhöhe:  $R_f = 0,65$

### c. Optische Aktivität

Zur Messung des Drehwertes wurde die im Exsikkator getrocknete, kristallwasserhaltige Substanz verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = -9,8^{\circ} \quad (c = 1,43; \text{Methanol})$$

$$[\alpha]_D^{20} = -11,1^{\circ} \quad (c = 1,71; \text{Äthanol})$$

### d. UV-Absorptionskurven

In einer Vakuumpistole wurden die Kristalle mehrere Stunden getrocknet und die nunmehr wasserfreie Substanz in reinstem Methanol gelöst. Die Lichtabsorption der Lösung wurde mit einem Spektralphotometer PMQ II von Zeiss im Wellenbereich von 210 - 420 m gemessen. Die Lage und Höhe der Banden stimmten mit dem synthetischen 2'-4-4'-6'-tetrahydroxychalkon-6'- $\beta$ -D-monoglukosid überein:

$$\lambda_{\max} = 370 \text{ m}\mu \quad (\log E_{\text{mol}} = 4,45)$$

$$\lambda_{\min} = 270 \text{ m}\mu \quad (\log E_{\text{mol}} = 3,42)$$

### e. Katalytische Hydrierung zum Phlorrhizin

150 mg Chalkonglukosid wurden in 40 ml absolutem Äthanol gelöst und mit ca. 0,1 - 0,2 g Palladiumkohle (10% Palladium) in 10 ml Ätha-

nol versetzt und im Schüttelapparat bei Zimmertemperatur und Normaldruck hydriert. Der Katalysator nahm sofort 10 ml Wasserstoff auf; innerhalb der nächsten 20 Minuten wurden dann weitere 12 ml Wasserstoff verbraucht. Nach einer Stunde wurde der Ansatz durch Zugabe von Äther vom Katalysator abfiltriert und im Vakuum bis fast zur Trockene eingeengt, der Rückstand in 20 ml warmen Wasser aufgenommen, mit Kohle geklärt und erneut filtriert. Beim Erkalten schieden sich lange, feine farblose Nadelchen aus, die bei  $121 - 123^{\circ}$  schmolzen (Heiztischmikroskop). Im Mischschmelzpunkt mit natürlichem Phlorrhizin (Fa. Schuchard, München) zeigte das Hydrierungsprodukt keine Erniedrigung.

Ausbeute: 60 mg

Konzentrierte Schwefelsäure löste die Substanz mit schwach gelber Farbe, die bei leichtem Erwärmen in Rot überging. Bei aufsteigender Papierchromatographie (Papier Schleicher und Schüll 2043 bM) im Laufmittel Eisessig - Wasser (15:85), zeigten beide Substanzen übereinstimmende Laufhöhe:

Phlorrhizin:  $R_f = 0,58$

Hydrierungs-  
produkt:  $R_f = 0,58$

Detektion durch Behandeln mit Ammoniakdämpfen unter der Analysen-Quarzlampe.

Die katalytische Hydrierung des synthetischen Chalkonglukosides sowie des durch Ringaufspaltung gewonnenen Produktes, zeigten die gleichen Ergebnisse wie oben beschrieben.

#### f. Quantitative Säurehydrolyse

0,4253 g kristallwasserhaltiges Glukosid wurden in 100 ml n/2 Salzsäure im siedenden Wasserbad erhitzt. Innerhalb 5 Minuten löste sich die Substanz und nach weiteren 15 Minuten trat Trübung und bereits Ausfall des Aglykons ein. Die Hydrolyse wurde eine Stunde lang fortgesetzt. Die erhaltenen, farblosen Kristalle wurden abgenutscht, mit Wasser gewaschen, zwei Stunden bei 100° getrocknet und nach 12stündigem Stehen im Vakuumexsikkator gewogen. Gewicht des Aglykons: 0,2378 g

|                                   |                             |        |
|-----------------------------------|-----------------------------|--------|
| $C_{21}H_{22}O_{10} \cdot 2 H_2O$ | ber. (f. ein Monoglukosid): | 57,87% |
|                                   | gef.                        | 56,0 % |

Nach zweimaligem Umkristallisieren aus 70%igem Äthanol schmolzen die farblosen Nadeln bei 251°. Im Mischschmelzpunkt mit authentischem Naringenin zeigte sich keine Depression. Die bei der Hydrolyse gewonnene Zuckerlösung wurde mit Bariumhydroxyd neutralisiert und D-Glukose durch Überführen in das Glukosazon nachgewiesen. Schmp. des Glukosazons: 207°

E. Literaturverzeichnis

1. Arakawa, H. u. Ann.Chem., 636, 111 (1960)  
Nakazaki, M.
2. Arthur, H.R. u. J.chem.Soc., 632, (1956)  
Hui, W.H.
3. Birch, A.J. J.chem.Soc., 3586, (1957)  
Clark-Lewis u.  
A.V.Robertson
4. Birch, A.J. Chem. and Ind., 664 (1956)  
A.V.Robertson u.  
J.W.Clark-Lewis
5. Bognar, R. u. Acta Chimica 217-229 (1957)  
M.Rakosi Hungaricae
6. Brügel, W. Einführung in die Ultrarot-  
spektroskopie, Darmstadt 1954
7. Cahn, R.S., Experientia, 81-124, 12, (1956)  
C.K.Ingold u.  
V.Prelog
8. Canter, W.F., J.chem.Soc., 1245 (1931)  
F.H.Curd u.  
A.Robertson
9. Carelli, V., Nature, 176, 70 (1955)  
Liquori, A.M. u.  
A.Mele
10. Charaux, C. u. Compt.rend.Acad.Sciences,  
J.Rabate 192, 1478 (1931)  
ibid.  
196, 816 (1933)
11. Clark-Lewis, J.W. Chem. and Ind., 1218 (1955)
12. Clark-Lewis, J.W. J.chem.Soc., 1402-1406 (1959)  
a.D.G.Roux
13. Cramer, F. Papierchromatographie, Verlag  
Chemie, Weinheim 1953

14. Cremer, M. Ber., 45, 2565 (1912)
15. Freudenberg, K. Angew. Chem., 67, 728 (1955)
16. Freudenberg, K.  
u. Weinges, K. Chem. and Ind., 486 (1959)
17. Geissmann, T. A. J. Amer. Chem. Soc., 63, 656 (1941)
18. Grassmann, W.  
Endres, W.,  
W. Paucker u.  
H. Mathes Chem. Ber., 90, 1125 (1957)
19. Gulati, K. C.,  
S. R. Seth u.  
K. Venkataraman Organic Syntheses XV, 70-71  
(1935)
20. Hänsel, R. u.  
D. Heise Arzneimittelforschung, 8, 245  
(1958)
21. Hänsel, R. u.  
D. Heise Archiv d. Pharm., 64, 398-411  
(1959)
22. Heise, D. Dissertation, Berlin (1959)
23. Hergert, H. L.  
u. Kurth, E. F. J. Amer. chem. Soc., 75, 1622  
(1953)
24. Herout, V.,  
Vrkoc, J. u.  
F. Sorm Collection Czechosloc. Chem.  
24, 3938-3954 (1959)
25. Hishida, S. J. chem. Soc. Japan, 79, 714 (1958)  
Ref. Chem. Zbl. 6808 (1959)
26. Hörhammer, L.  
u. Wagner, H. Pharmazeutische Zeitung 1959  
Bd. 104, 783-186
27. Hörhammer, L.  
H. Wagner u.  
W. Leeb Naturwissenschaften, 44, 513  
(1957)

28. Hudson, C.S. Nature, 171, 371 (1952)
29. Inglett, G.E. J.Org.Chem., 93 (1958)
30. Jerzmanowska, Z. Acta polon.pharmac., 13, 301  
(1956)
31. Jerzmanowska, Z. Acta polon.pharmac., 15, 13  
(1958)
32. Kuroda, Ch. J.chem.Soc., 752 (1930)
33. Ladenburg, A. Ber.chem.Ges., 27, 75 (1894)  
ibid. 31, 524, 937,  
1969 (1898)
34. McKenzie, A. Ber.dtsch.chem.Ges., 69, 1118  
u. E.M.Luis (1936)
35. Neu, R. Nature, 182, 660 (1958)
36. Pew, J.C. J.Amer.chem.Soc., 70, 3031-3034  
(1948)
37. Price, I.R. J.Chem.Soc., 1018 (1939)
38. Roberts, E.H. Chem.and Ind., 631 (1955)  
ibid. 1551 (1955)  
ibid. 737 (1956)
39. Roux, D.G. J.of Chromatography, May 19  
(1960)
40. Schmidt u. Angewandte Chemie, 68, 103  
Mayer (1956)
41. Shaw, B.L. u. J.Chem.Soc., 655 (1955)  
Simpson, T.H.
42. Spada, A. u. Gazzetta Chimica Italiana,  
R.Cameroni 85, 1043-1049

43. Tappi,G.           Gazetta Chimica Italiana,  
85, 703 (1955)
44. Ting,S.V.         J.Agricult a.Food Chem., 6, 546  
                        (1958)
45. Weinges,K.       Ann.Chem., 615, 203 (1958)
46. Weinges,K.       Ann.Chem., 627, 229-236 (1959)
47. Whalley,W.B.     The Stereochemistry of the Chromans and related Compounds, Symposium on Vegetable Tannins, Cambridge, April 1956, Society of Leather Trades Chemists, Croydon 1956, 151
48. Zemplen,G.       Ber.dtsch.chem.Ges., 76, 386-390  
    Bognar,R.u.  
    J.Szekely                               (1943)
49. Zemplen,G. u. Ber.dtsch.chem.Ges., 75, 1040  
    Bognar,R.                               (1942)

## Lebenslauf

Am 9. Oktober 1924 wurde ich, Gerd Pinkewitz, als Sohn des Bauführers Gustav Pinkewitz und seiner Ehefrau Maria Pinkewitz, geb. Freimann in Treuburg/Ostpr. geboren. 1924 zogen wir nach Berlin, wo ich die 7. Volksschule mit Aufbauklassen in Wilmersdorf besuchte, die ich 1941 mit dem Zeugnis der Mittleren Reife verliess. Im April desselben Jahres begann meine Ausbildung als Industriekaufmann bei den Askania-Werken A.G. in Berlin, die im Oktober 1942 durch meine Einberufung zur Wehrmacht unterbrochen wurde. April 1945 kam ich in englisch-amerikanische Kriegsgefangenschaft und wurde daraus im Juli 1945 nach Glückstadt in Holstein entlassen. Im Juli 1947 erhielt ich die Zuzugsgenehmigung nach Berlin, wo ich im August desselben Jahres meine unterbrochene Lehre bei den Askania-Werken fortsetzte, die ich im Oktober 1948 offiziell vor der Industrie- u. Handelskammer beendete. Zu dieser Zeit besuchte ich das "Private Goethe Pädagogium", um mich auf das Abitur vorzubereiten. Im Mai 1949 legte ich die Reifeprüfung als Extraner ab. Von Juni 1949 bis August 1952 war ich dann als Bibliothekar im Amerika-Haus in Berlin beschäftigt. Zum Wintersemester 1950/51 liess ich mich an der TU Berlin für das Fach Chemie einschreiben. Wegen familiärer und finanzieller Schwierigkeiten musste ich jedoch das Studium nach drei Semestern aufgeben. April 1954 begann ich die praktische Ausbildung als Apothekerpraktikant in der "Dr. Fischer's Apotheke" in Berlin-Halensee, die ich mit dem Vorexamen abschloss. Zum Sommersemester erhielt ich die Zulassung zum

Studium an der Freien Universität Berlin, das ich nach 5-semesterigem Studium mit dem Staatsexamen beendete.

Seit 1959 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel, Direktor des Instituts für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin.





